

Contribution à l'Etude
des
Hypéricacées
et des propriétés physico-chimiques
du
Rouge d'Hypéricum

THÈSE

pour le Doctorat de l'Université d'Alger (Mention Pharmacie)

présentée et soutenue publiquement le 13 Février 1939

par

HALLARD JEAN

né le 1^{er} Octobre 1906 à BRIANÇON (Hautes Alpes)

JURY

MM. PORTES, <i>Professeur de Physique médicale</i>	Président
PINOY, <i>Professeur de Bactériologie</i>	} Juges
FOURMENT, <i>Professeur de Botanique et Matière médicale</i>	
ROQUES, <i>Agrégé (Histoire naturelle pharmaceutique)</i>	

Contribution à l'Etude
des
Hypéricacées
et des propriétés physico-chimiques
du
Rouge d'Hypéricum

THÈSE

pour le Doctorat de l'Université d'Alger (Mention Pharmacie)

présentée et soutenue publiquement le 13 Février 1939

par

HALLARD JEAN

né le 1^{er} Octobre 1906 à BRIANÇON (Hautes Alpes)

JURY

MM. PORTES, <i>Professeur de Physique médicale</i>	Président
PINOY, <i>Professeur de Bactériologie</i>	Juges
FOURMENT, <i>Professeur de Botanique et Matière médicale</i>	
ROQUES, <i>Agrégé (Histoire naturelle pharmaceutique)</i>	

UNIVERSITE D'ALGER

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER

DOYEN.....	}	MM. LEBLANC (♂. ♀. I. ♀)
DOYEN HONORAIRE.....		HERAIL (♂. I. ♀)
ASSESEUR.....		COSTANTINI (O. ♀. I. ♀)

PROFESSEURS

Clinique médicale	AUBRY (O. ♂. ♀. I. ♀)
Clinique gynécologique.....	CABANES (♂. ♂. I. ♀)
Clinique chirurgicale	COSTANTINI (O. ♀. I. ♀)
Botanique et matière médicale.....	FOURMENT (I. ♀. O. O. ♀)
Clinique médicale et hygiène infantile.....	GILLOT (I. ♀)
Médecine légale	GIRAUD (O. ♂. ♀. I. ♀)
Clinique obstétricale et puériculture du premier âge	LAFFONT (O. ♂. ♀. I. ♀)
Anatomie	LEBLANC (♂. ♀. I. ♀)
Thérapeutique	LEBON (♂. ♀. I. ♀)
Clinique chirurgicale infantile et d'orthopédie.....	LOMBARD (♂. I. ♀)
Chimie biologique et médicale.....	GIBERTON, (I. ♀)
Pharmacie	MUSSO (♂. I. ♀)
Bactériologie	PINOY (♂. I. ♀)
Clinique psychiatrique.....	POROT (I. ♀)
Physique médicale.....	PORTES (♂. ♀. I. ♀)
Anatomie pathologique	MONTPELLIER (I. ♀)
Clinique des maladies des pays chauds, des maladies syphilitiques et cutanées.....	RAYNAUD (♂. ♀. I. ♀)
Parasitologie et zoologie médicale.....	SENEVET (♂. I. ♀)
Physiologie	TOURNADE (O. ♂. ♀. I. ♀)
Histologie et Embryologie.....	COURRIER (♂. I. ♀)
Chimie générale, pharmaceutique et toxicologie	WUNSCHENDORFF (I. ♀)
Clinique ophtalmologique	TOULANT (♂. ♀. ♀)
Hygiène, hydrologie et climatologie.....	BENHAMOU (♂. ♀. A. ♀)

PROFESSEURS HONORAIRES

ARGAUD (♂. ♀. I. ♀)	WEBER (♂. ♀. I. ♀)	HERAIL (♂. I. ♀)
---------------------	--------------------	------------------

CHARGES DE COURS

Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	MM. ABOULKER (♂. ♀. I. ♀)
--	---------------------------

AGREGES

Médecine	LACROIX (A. ♀)
Histologie	N...
Chirurgie	SABADINI
Obstétrique	MOGGI (♂. I. ♀)
Anatomie pathologique	HOUEL (♂. ♀. I. ♀)
Anatomie	N...
Chimie médicale	RIBET (♂. A. ♀)
Histoire naturelle pharmaceutique.....	N...
Pharmacie	ROQUES (I. ♀)
	MONNET

AGREGES LIBRES

Physiologie	BATTEZ.
Chirurgie	FERRARI (I. ♀)
	DUBOUCHER (I. ♀)

NOTA. — La Faculté n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses; ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

A LA MEMOIRE DE :

MON PERE

DE MES GRANDS-PARENTS

ET DE

MON PARRAIN

ANTONIN ROQUELAINE

Ils ont été pour nous les plus précieux exemples d'Honneur, de Travail et de Bonté.

A MA MERE

A MA FEMME

A MES ENFANTS

MARINETTE ET PIERRE

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

En gage de profonde affection.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. PORTES

*Professeur de Physique médicale
Chevalier de la Légion d'Honneur
Décoré de la Croix de Guerre*

Pendant toute la durée de nos études, il n'a cessé de nous témoigner la plus grande bienveillance.

Il nous a accueilli dans son laboratoire et conseillé au cours de notre travail.

Nous le prions de trouver, ici, l'expression de notre admiration, et, s'il le permet, l'assurance de notre respectueuse amitié.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PINOY

Professeur de Bactériologie

Chevalier de la Légion d'Honneur

Dont les savantes et claires leçons de Cryptogamie et de Bactériologie ont laissé un profond souvenir dans notre mémoire d'étudiant.

Nous le remercions du grand honneur qu'il nous fait en acceptant de siéger dans notre Jury de thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. FOURMENT

Professeur de Botanique et de Matière médicale

Il a été pour nous un Maître admiré. Son enseignement fait de clarté et de rigoureuse logique, reste vivant dans notre esprit.

Qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de notre profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROQUES

Agrégé d'Histoire Naturelle pharmaceutique

qui a bien voulu nous guider dans la partie botanique de ce travail, et nous donner les plus précieux témoignages de sympathie.

Contribution à l'Étude
des
Hypéricacées
et des propriétés physico-chimiques
du
Rouge d'Hypéricum

Introduction

Le présent travail est consacré à l'étude de quelques propriétés du « Rouge d'Hypéricum », que les auteurs appellent aussi « Hypéricine. »

Notre plan d'étude primitif comprenait essentiellement une série de recherches sur les caractères physico-chimiques et, particulièrement, les activités photodynamiques de cette substance dont on connaît, depuis les premières observations de HIRST, la magnifique fluorescence rouge.

La littérature vétérinaire signalant un certain nombre de faits pathologiques survenus chez les animaux domestiques à la suite d'absorption de fourrages riches en « *Hypericum perforatum* » (Millepertuis) ; la littérature nord-africaine relatant de nombreux cas de « *Hamra* », maladie des moutons due à l'absorption d' « *Hypericum crispum* » ; nous nous sommes d'abord proposé de reproduire au Laboratoire, en expérimentant sur des animaux à pelage clair, les phénomènes précédemment décrits, pour en déterminer, si possible, le mécanisme.

Il s'agissait, avant tout, de suivre la substance dynamogénique à travers les étapes organiques successives : digestion, assimilation, transport humo-

ral, élimination rénale ou biliaire, etc... afin de déterminer les modalités de son transit et, peut-être, éventuellement, ses transformations : dislocation, leuco-dérivés, etc... La recherche systématique de la présence du « Rouge d'*Hypericum* » dans la bile ou dans l'urine peut, en effet, à elle seule, contribuer à fixer un point précis de la chimie du pigment.

A notre souci de noter les étapes organiques biologiques suivies par l'Hypéricine (de l'absorption à l'élimination), est venue s'ajouter l'étude des phénomènes provoqués par l'action de la lumière excitatrice chez l'animal saturé de pigment.

Par ailleurs, l'Hypéricine partageant sa propriété photodynamique avec deux autres substances à fluorescence assez voisine, — quoique appartenant à des classes chimiques différentes, — notre plan d'études s'est agrandi par des recherches comparatives sur l'action de l'« *Eosine* » et de l'« *Hématoporphyrine* ».

Notre sujet a donc pris une extension justifiée par la nécessité de préciser les aspects nouvellement entrevus. C'est une étude poursuivie pendant près de trois années — et qui s'est heurtée à bien des difficultés matérielles — que nous présentons aujourd'hui comme sujet de thèse inaugurale.

Sur les Conseils de nos Maîtres, nous avons placé dans la première partie une vue générale de la famille des « *Hypéricacées* », en accordant une mention toute particulière aux espèces rencontrées en Algérie. Tel qu'il est, ce travail peut être surtout

considéré comme une nouvelle contribution à l'étude d'une substance que l'ancienne pharmacopée utilisait empiriquement, et qui promet de donner, sur le terrain de la thérapeutique rationnelle, des résultats particulièrement dignes d'utilisations intéressantes.

Nous devons en effet noter, dès cette introduction, que le « Rouge d'Hypéricum », s'apparentant très vraisemblablement au grand groupe des Flavones, est non seulement curieux par sa belle fluorescence, par les propriétés photodynamiques qu'elle lui confère, mais que celles-ci doivent certainement une grande partie de leur activité à une organisation moléculaire se traduisant, sur le terrain spectroscopique, par des bandes d'absorption qui rappellent, au premier aspect, celles de l'oxyhémoglobine.

Spectre d'absorption et propriétés fluorescentes forment donc, dans l'Hypéricine, une association exceptionnelle qui, au premier examen, semble justifier l'action particulièrement active du pigment. Nous allons envisager ces quelques idées dans les pages qui vont suivre.

Historique

Le MILLEPERTUIS (*Hypericum perforatum*) L., très en honneur dans la pharmacopée ancienne, a vu, peu à peu, son emploi tomber en désuétude. De nos jours, il n'entre plus que dans la préparation de l'alcoolat vulnéraire, dans celle du Baume du Commandeur, et dans quelques huiles ou liniments utilisés en médecine homéopathique.

Les anciens Traités de Matière médicale attribuaient au *Millepertuis* une foule de propriétés : détersives, résolutives, vulnéraires, anthelminthiques, diurétiques, emménagogues... qu'ils rapportaient à : « l'action tonique que cette plante exerce sur l'économie animale, et dont les effets salutaires trouvent leurs applications dans une foule de maladies. »

ETTMULLER conseillait l'emploi du *Millepertuis* comme diurétique sans pareil, et le simple usage de sa décoction ou de son extrait suffisait pour « prévenir, à jamais, l'ischurie, l'hématurie, la néphrétique et la formation des calculs de la vessie. »

Certains auteurs ont vanté son efficacité contre l'hémoptysie ; d'autres l'ont décoré de la faculté de dissoudre le sang épanché et grumelé dans l'intérieur des organes, de déterger et de cicatriser, avec une

admirable facilité, les ulcères des reins, de la vessie, des poumons et autres viscères. D'aucuns ont poussé l'extravagance jusqu'à lui attribuer la vertu de guérir la phtisie pulmonaire.

Il n'est pas cependant sans quelque intérêt de signaler que l'usage de la plante fut avantageusement préconisé dans l'aménorrhée pour « ramener l'écoulement des règles », et que, dans certains cas, on l'a également employée avec succès pour « faciliter l'accouchement » — (action qui serait comparable à celle de l'ergot de seigle).

La présence d'une huile volatile, analogue à celle de la térébenthine, dans les petites vésicules qui se trouvent dans le Millepertuis, semble donner beaucoup de probabilités aux avantages que l'on assure avoir obtenu de l'emploi de cette plante comme anthelminthique.

C'est surtout comme vulnéraire que les qualités de l'*Hypericum* étaient appréciées. On l'employait sous forme d'une huile préparée comme suit :

« macération, pendant trois jours, de 500 grammes de sommités fleuries, fraîchement cueillies, et incisées dans un mélange de 1.000 grammes d'huile d'olive et de 500 grammes de vin blanc ; puis, ébullition au bain-marie jusqu'à consommation du vin. » La liqueur résultant de cette opération était d'un beau rouge cramoisi ; elle servait à imbiber des compresses de gaze, dont on recouvrait les plaies ; une couche d'ouate et une bande complétaient le pansement.

Les Médecins de Montpellier l'utilisaient presque exclusivement, à l'extérieur, sous forme de liniment, de baume, d'onguent, d'emplâtre, de décoction, pour résoudre les épanchements, suite de contusions ; pour faire disparaître les ecchymoses ; déterger les ulcères atoniques et les plaies baveuses ; réunir, cicatriser et consolider les blessures. Ces vertus vulnéraires, évidemment exagérées, avaient été, d'ailleurs, successivement prônées par un grand nombre de thérapeutes célèbres, tels que THÉOPHRASTE, MATTHIOLE, PARACELSE, FALLOPE, SCOPOLI, PARELLI, CAMERARIUS, SALA, LOCHER et GÉOFFROY.

Si nous ne devons pas croire aveuglément à toutes les vertus du *Millepertuis*, certaines, pourtant, ne doivent pas nous échapper, car plusieurs de ses préparations ont été employées avec succès dans des cas de *rhumatismes chroniques*, qui cèdent souvent aux topiques excitants. Utilisé contre les brûlures, il présente les avantages suivants : diminution des symptômes douloureux, par suite d'une action anesthésique locale, légère, mais constante ; régression des phénomènes inflammatoires. Il joue, vis-à-vis des tissus lésés, un rôle protecteur, sans en compromettre la vitalité, sans déterminer de rétention ni de suppuration des liquides excrétés, et il *favorise la réparation du revêtement épidermique*.

En 1818, quoique le *Millepertuis* soit entièrement tombé en désuétude, on l'employait en *infusion* de quatre à huit grammes, et, en *substance*, à la moitié de cette dose. Son essence, que l'on trouvait encore chez quelques apothicaires, se donnait à la dose de

quatre grammes (un gros) ; son extrait résineux à celle de huit grammes (deux gros) ; et sa teinture alcoolique à douze centigrammes (un scrupule). Son huile volatile, très rarement employée, n'était administrée qu'à la dose de quelques gouttes ; l'huile d'*Hypericum* l'était à la dose de seize à trente-deux grammes (une demie à une once).

En plus de ses propriétés thérapeutiques, le *Millepertuis* avait, prétendait-on, le pouvoir merveilleux de chasser les démons du corps des possédés. Les Médecins occultistes l'appelaient « *Fuga dæmonum* », persuadés qu'il exerçait un pouvoir absolu sur les mauvais esprits grâce à l'odeur d'encens qu'il dégagé, l'encens étant le parfum de Dieu.

Comme ses feuilles sont criblées de trous, et que ses fleurs laissent suinter un suc sanguinolent, les adeptes de la médecine des signatures en faisaient un spécifique de toutes les lésions entraînant une solution de continuité avec perte de sang.

Le *Millepertuis* faisait également partie d'une quantité de préparations officinales, de nos jours entièrement discréditées. Les principales étaient :

le sirop antinéphrétique, apéritif et cachectique
de CHARRAS,

le sirop de QUERCÉTAN (*Duchene*), et celui
d'ARMOISE,

la poudre de PALMARIUS (*Palmier*), contre la
rage,

la thériaque d'ANDROMAQUE,

le mithridate,
le mondificatif d'ACHE,
les huiles d'hypericum et de scorpions composées,
l'onguent Martiatum de CHARRAS,
l'eau vulnéraire de PÉNICHER,
le baume magique, et autres produits monstrueux du charlatanisme, de l'ignorance et de la crédulité la plus aveugle.

De tout ce qui précède, il semble résulter que le *Millepertuis*, employé empiriquement dans de multiples affections ne présentant entre elles aucune parenté certaine, a joui d'une réputation exagérée. Il ne s'ensuit pas nécessairement qu'il faille le rejeter à tout jamais. — La thérapeutique actuelle, tenant compte des succès réels obtenus dans l'épidermisation, par l'usage de certaines préparations comportant la présence de l'« *Hypericum perforatum* », peut lui réserver la petite place qui lui est due.

PREMIERE PARTIE

Caractères Généraux
des Hypéricacées

Le Millepertuis que nous avons utilisé dans nos recherches appartient à la famille des Hypéricacées et à l'ordre des Guttiférales.

Nous exposerons tout d'abord les caractères généraux de la famille.

Caractères Généraux des Hypéricacées

Les Hypéricacées comprennent des herbes vivaces, des sous-arbrisseaux (*Hypericum Androsæmum*), des arbrisseaux (*Vismia*), et même des arbres. Leurs feuilles, dépourvues de stipules, sont opposées ou verticillées, simples, penninerves, entières ou dentées.

Les fleurs, généralement accompagnées de pré-feuilles, sont solitaires ou disposées en panicules terminales, formées de cymes bipares, et finalement réduites en cymes unipares.

Toutes les Hypéricacées ont des fleurs régulières et hermaphrodites, à périanthe double et 4-5 mère. Les sépales sont libres et imbriqués dans le bouton. Les pétales, en même nombre, imbriqués ou tordus, sont libres ou un peu soudés à la base. L'androcée est formé de 2 verticilles d'étamines ; les externes, épisépales, restent à l'état de staminodes ou disparaissent sans laisser de traces ; les étamines internes, épipétales, sont, au contraire, très nombreuses ; elles naissent dans l'ordre centrifuge et se réunissent en

faisceaux distincts ; quelques rares espèces ont seulement 5 étamines.

Dans les Hypéricacées les plus complètes (*Vismia*) il y a 5 faisceaux d'étamines alternant avec le même nombre de staminodes ; certains *Hypericum* ont encore 5 faisceaux d'étamines ; beaucoup d'autres n'en ont que 3 : l'un antérieur, les deux autres latéraux postérieurs (*Hypericum perforatum*). Les deux loges de l'anthère s'ouvrent chacune par une fente longitudinale et introrse. Les carpelles, en même nombre que les faisceaux d'étamines, sont placés dans leur intervalle ; s'il y en a 5, ils sont opposés aux sépales ; s'il y en a 3, l'un d'eux est postérieur médian, les deux autres sont latéraux et antérieurs. L'ovaire est habituellement divisé en 3 ou 5 loges complètes, et surmonté d'autant de styles libres, correspondant à la nervure médiane de chaque carpelle ; mais, dans quelques *Hypericum*, les cloisons n'arrivent pas jusqu'à l'axe central, les placentas sont pariétaux, et l'ovaire uniloculaire. Les ovules, habituellement nombreux, anatropes et pendants, sont disposés en deux séries, sur chaque placenta ; s'il y en a un petit nombre, ils sont dressés ou horizontaux ; leur raphé est latéral ou supère, leur funicule est court ; ils sont pourvus de 2 téguments épais.

Le fruit sec, capsulaire, septicide (*Hypericum Ascyrum*) ou loculicide (*Cratoxylon*), devient charnu, bacciforme, dans les *Vismia*. Les graines, parfois ailées (*Cratoxylées*), ne renferment jamais d'albumen ; elles contiennent un embryon droit ou courbe,

à cotylédons plans ou semi-cylindrique, à radicule supère.

BEILLE nous donne des Hypéricacées la division systématique suivante :

HYPERICACEES

TRIBUS

A) Fruit capsulaire :

- a) capsule septicide ; graines non ailées..... 1° **HYPÉRICÉES**
- b) capsule loculicide ; graines ailées..... 2° **CRATOXYLÉES**

B) Fruit charnu : baie ou drupe 3° **VISMÉES**

Seule la tribu des *Hypéricées* proprement dites, celle qui donne son nom à la grande famille, retiendra notre attention dans la partie botanique de ce travail.

Nous mentionnerons spécialement, dans les pages qui vont suivre, les Hypéricacées que l'on peut rencontrer à l'état sauvage en Algérie, nous arrêtant plus longuement à l'étude de l'*Hypericum perforatum*, que nous avons le plus souvent rencontré, et qui a servi dans la plus grande partie de nos expériences.

Parmi les Hypéricacées algériennes, nous observons :

1° des Hypéricacées à fruits bacciens, à étamines pentadelphes, genre *Androsæmum*.

HYPERICUM ANDROSÆMUM. — Arbrisseaux rameux, à feuilles ovales lancéolées entières (4 à 9 centimètres sur 2-4) ; rameaux à 2 ailes étroites ; fleurs médiocres (12 à 16 millimètres). Se trouvent dans les lieux frais de la région Atlantique, en Europe, en Orient, dans la région Méditerranéenne, dans le Djurdjura et au Ruisseau des Singes.

2° des Hypéricacées à fruits capsulaires déhiscents, à étamines triadelphes ; genre *Euphypericum*.

α) **Capsule toute couverte de grosses vésicules** ; plantes glabres ; tiges rondes avec 2 lignes longitudinales.

HYPERICUM CILIATUM. — Tiges fortes, dressées, rameuses seulement dans le haut ; feuilles de 4 cms sur 1 cm $\frac{1}{2}$ environ, cordées lancéolées, un peu aiguës, largement embrassantes, un peu dentées ; sépales longuement ciliés, ponctués de noir ; fleurs grandes en corymbe dense ; étamines égalant presque les pétales ; graines à stries longitudinales, ondulées. Pousse, de mai à juillet, aux environs d'Alger et en Kabylie.



Hypericum perforatum

HYPERICUM PERFORATUM. — Trouvé, d'Avril à Juillet, dans le département d'Alger ; fera plus loin l'objet d'une étude histologique détaillée. — Nous nous bornons à signaler, maintenant, ses caractères externes différentiels.

Cette plante doit son nom vulgaire de « Mille-Pertuis » à l'un des caractères de ses feuilles parsemées de points transparents, ou, plutôt, de vésicules remplies d'une huile essentielle très limpide [caractère commun à plusieurs autres plantes d'un genre différent].

Celui-ci se distingue par : un calice à 5 divisions ; 5 pétales ; des étamines nombreuses réunies en 3 ou 5 faisceaux ; un ovaire supérieur à 3 ou 5 styles ; une capsule à 3 loges polyspermes, s'ouvrant en autant de valves.

Commun sur la lisière des bois et dans les haies, c'est une herbe à souche vivace, dont la tige rameuse (0^m 20 à 0^m 40) porte deux ailes latérales peu sail-lantes.

Les racines sont dures, ligneuses, divisées en plusieurs rameaux, d'un brun jaunâtre ; elles produisent plusieurs tiges droites, fermes, très rameuses, glabres, cylindriques, mais garnies, à chaque entre-nœud, de deux angles opposés, produits par la nervure moyenne de chaque feuille.

Les feuilles sont petites, sessiles, opposées et dépourvues de stipules, penninerves, longues de 8 à 9 lignes, larges de 2 à 4 ; ovales, oblongues, un peu obtuses, vertes, glabres, entières ; elles présentent de

nombreux points glanduleux translucides, et des ponctuations noires sur les bords.

Les *fleurs*, d'une médiocre grandeur, sont régulières, hermaphrodites, de coloration jaune, réunies en grappes corymbiformes, au sommet de la tige et des rameaux latéraux. Sur les bords du réceptacle floral convexe s'insèrent 5 sépales linéaires, d'abord imbriqués, puis valvaires persistants ; en dedans, et dans leur intervalle, se placent 5 pétales obovales, à onglet court, bordés de points noirâtres.

Les étamines, très nombreuses, sont réunies en 3 faisceaux un peu plus courts que la corolle, placés, l'un en avant et dans le plan médian, les deux autres en arrière et latéralement ; leurs anthères, biloculaires, s'ouvrent par deux fentes longitudinales et introrses.

Le gynécée est formé de 3 carpelles soudés ; l'ovaire, surmonté de 3 styles entièrement libres et renflés au sommet, est divisé en autant de loges complètes, renfermant un nombre d'ovules anatropes fixés à leur angle interne.

Le *fruit* est une capsule à déhiscence septicide ; les graines alvéolées et dépouillées d'albumen, contiennent un embryon droit ou courbe, dont les cotylédons sont plus grands que la radicule.

HYPERICUM AFRUM. — Ressemble à l'*Hypericum perforatum* [cependant, il existe une différence dans ses tiges, qui sont sous-frutescentes, hautes de 10 à 16 décimètres] ; ses feuilles sont plus larges, ellip-

tiques, crispées sur le bord ; son inflorescence plus étalée ; ses capsules un peu plus grandes. On le trouve à Akfadou, La Calle, en Tunisie.

b) Capsule munie de bandelettes parallèles nombreuses.

1° Tige quadrangulaire à 4 ailes étroites ; plantes glabres.

HYPERICUM TETRAPTERUM. — Tiges droites ; feuilles elliptiques finement ponctuées, pellucides ; corymbe serré ; fleurs médiocres ; sépales lancéolés, aigus, entiers ; graines cendrées, rugueuses, fovéolées. — Se trouve dans la région de Médéa, Nador, au-dessus de Lodi, et en Kabylie. - Pousse de Juin à Juillet.

2° Tige ronde ou munie de lignes ou ailes étroites ; feuilles glabres semi-amplexicaules.

HYPERICUM MONTANUM. — Tiges dressées, peu rameuses ; feuilles ovales bordées de points noirs, les supérieures ponctuées, pellucides ; cymes compactes ; pédicelles très courts ; sépales munis de cils courts et glanduleux ; graines fovéolées. — Djurdjura, Europe, Orient.

HYPERICUM CRISPUM. — Plante très rameuse, pyramidale, à rameaux divariqués ; feuilles

étroites, à bords ondulés, ponctuées ; cymes pauciflores au bout des rameaux ; sépales entiers ; fleurs petites ; grainés ponctuées. — Tunisie, région Méditerranéenne.

HYPERICUM REPENS. — Tiges nombreuses, souvent décombantes, grêles (1 à 3 décimètres) ; feuilles ovales elliptiques bordées de points noirs, non ponctuées, pellucides, glauques en dessous ; sépales entiers ou un peu glanduleux ; pétales jaunes à veines rougeâtres ; graines alvéolées. — Tell - [Mars, Juillet].

3° Feuilles et tiges pubescentes ; rondes, feuilles embrassantes ou cornées.

HYPERICUM NAUDINIANUM - *HYPERICUM PERFOLIATUM.* — Plante touffue, à tiges les unes stériles, les autres florifères, plus ou moins rameuses, décombantes ; feuilles assez larges, pubescentes cornées, peu ou pas ponctuées, sépales un peu glanduleux, oblongs, lancéolés, entiers ou presque entiers ; fleurs grandes ; graines un peu rugueuses. — Cascades de la région montagnaise, rochers humides.

HYPERICUM TOMENTOSUM. — Tiges décombantes ; feuilles ovales ou oblongues, bords sinués, embrassantes, non cornées ; grappes corymbiformes ; fleurs brièvement pédicellées ; sépales lancéolés acuminés, brièvement ciliés ; capsule petite ; graines striées

alvéolées. — Tell, Hauts-Plateaux, Espagne, France, Italie, Maroc - [Juin-Septembre].

HYPERICUM RACEMOSUM. — Feuilles petites, parfois glabrescentes ; tiges grêles, couchées ; fleurs en longues grappes unilatérales — Bord des chemins, long des murs.

HYPERICUM PALUSTRE. — Plante élancée, robuste, à tiges dressées — dans les Marais (*Boufarik, Maison-Carrée*).

HYPERICUM PUBESCENS - *HYPERICUM SUBEROSUM*. — Plante laineuse, à tiges droites, fermes, élancées ; à fleurs plus grandes ; sépales laineux, longuement acuminés, non ciliés — Hauts-Plateaux, Kabylie.

HYPERICUM COADUNATUM. — Se trouve au Maroc.

HYPERICUM UNDULATUM. — Se trouve au Maroc.

Anatomie microscopique

Appareil sécréteur chez les Hypéricacées

Dans les pages qui suivent, nous allons envisager la structure interne, histologique, des *Hypéricacées*, en choisissant comme type l'*Hypericum calycinum* qui a déjà été *minutieusement* décrit par PH. VAN TIEGHEM, dont l'étude nous servira de base pour une vue générale, comparative.

Nous exposerons successivement, d'après le grand Botaniste précité, les parties constitutives de cette plante : racine, rhizome, tige, en mentionnant leurs particularités distinctives, et en faisant les rapprochements qui s'imposent avec les autres représentants de la tribu.

D'après PH. VAN TIEGHEM, l'anatomie type de l'*Hypericum calycinum* présente les caractères suivants :

Racine. — Son écorce est dépourvue de canaux sécréteurs. Sous l'endoderme, le péricycle ne compte qu'un seul rang de cellules en dehors des faisceaux ligneux et des faisceaux libériens ; mais, dans les intervalles des faisceaux, il comprend deux assises,

et, dans l'assise interne, se trouve entaillé, à droite et à gauche de chaque faisceau libérien, un étroit canal oléifère bordé de quatre cellules sécrétrices. L'huile essentielle se colore en rouge par la fuchsine, ce qui facilite beaucoup la recherche des canaux. Cette disposition des canaux sécréteurs de la racine, en alternance avec les faisceaux libériens et ligneux au sein d'un péricycle localement épaissi, est fort remarquable, et n'a pas été observée, jusqu'à présent, ailleurs que dans les Hypéricacées. Les faisceaux libériens primaires sont dépourvus de canaux, mais il s'en produit, plus tard, en grand nombre, dans le liber secondaire, après que l'écorce a été exfoliée par la formation d'une couche de liège dans le péricycle.

Rhizome. — Il présente, dans la zone externe de son écorce, quinze à vingt canaux oléifères disposés sur un seul cercle et rapprochés en quatre arcs qui correspondent aux quatre rangées de feuilles ; ces canaux, entaillés chacun dans une seule file longitudinale de cellules corticales, et bordés de quatre à six petites cellules sécrétrices, appartiennent, ordinairement, à la troisième assise de l'écorce, quelquefois à la seconde, ou, même, à l'assise sous-épidermique. L'endoderme est pourvu de plissements très nets et fortement subérifiés. Le cylindre central commence par un péricycle parenchymateux formé de quatre rangs de cellules, dont l'externe se cloisonne, plus tard, tangentielllement, pour produire la couche de liège qui exfolie l'écorce ; c'est dans le rang interne,

contre le liber, [quelquefois dans le troisième, rarement dans le second] que se trouvent creusés d'étroits canaux oléifères bordés ordinairement par quatre, quelquefois par cinq ou six petites cellules. Le liber et le bois primaires sont dépourvus de canaux sécréteurs et entourent la moelle d'un cylindre ou, plutôt, d'un prisme quadrangulaire continu. Le liber secondaire, totalement dépourvu de fibres, renferme d'étroits canaux oléifères bordés par quatre cellules, et disposés en cercles concentriques. Dans la moelle, on aperçoit quatre canaux oléifères en face des angles du prisme libéro-ligneux.

Les deux qui répondent aux feuilles prochaines sont toujours bien développés, mais l'un des deux autres manque quelquefois. Ces canaux médullaires sont interrompus aux nœuds ; ils ne pénètrent pas dans les feuilles. Au contraire, les arcs de canaux corticaux se prolongent dans les écailles du rhizome, où on peut les suivre jusqu'à une certaine distance de la base.

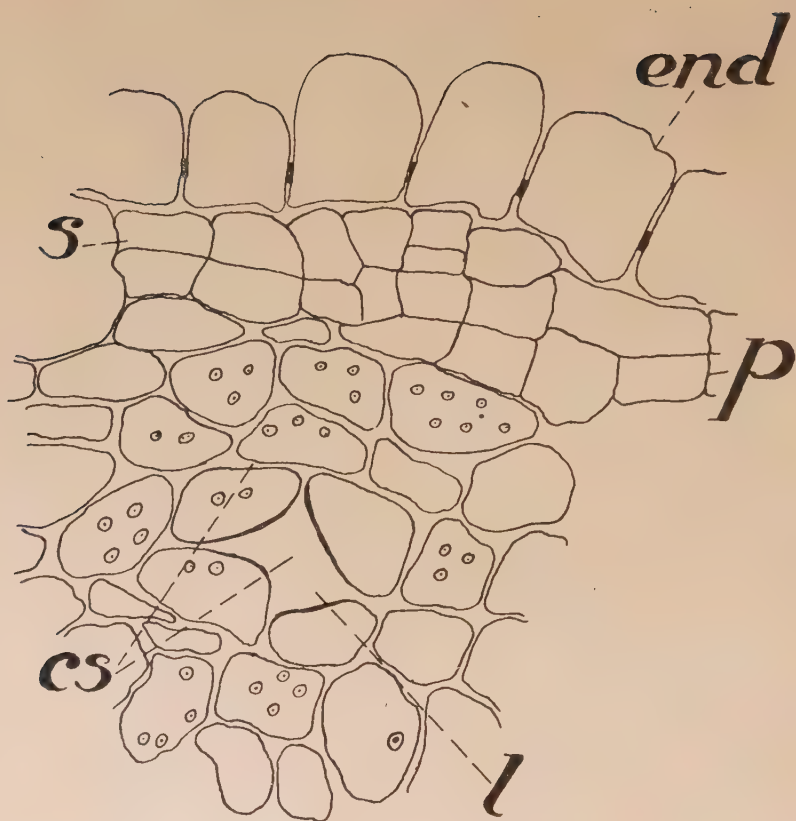
Tige. — Elle offre la même structure, à de légères différences près. Elle est quadrangulaire, et son écorce renferme à chaque angle un canal oléifère entaillé dans la troisième ou la quatrième assise. Chacun des arcs de canaux corticaux du rhizome se réduit donc à un canal unique dans la tige aérienne. L'endoderme porte, sur les parois latérales, deux séries de plissements très nets, réunies par une bande d'épaississement sur les faces transverses ; il se subérifie fortement, surtout sur les faces latérales.

Le péricycle comprend trois ou quatre rangs de cellules à parois minces, aplaties tangentiellement ; le rang externe est incolore et produit la couche subéreuse qui exfoliera l'écorce ; les autres renferment de la chlorophylle. C'est dans le rang interne que sont creusés des canaux oléifères, bordés, ordinairement, par quatre cellules sécrétrices aplaties et ayant la forme de losanges ; ces cellules sécrétrices sont, donc, séparées de l'assise génératrice du liège par une ou deux épaisseurs de cellules vertes. Quelquefois, pourtant, le péricycle n'a que deux assises, une incolore et une verte ; entaillés dans celle-ci, les canaux touchent alors directement les cellules génératrices du liège ; cette disposition se retrouvera dans l'*Hypericum perforatum*, où les cellules vertes ordinaires se dédoublent par une cloison tangentielle, comme les cellules initiales des canaux qu'elles séparent. Le liber et le bois primaires sont dépourvus de canaux ; le liber secondaire, tout entier mou comme dans le rhizome, en renferme de très étroits, bordés de quatre petites cellules, disposés en cercles concentriques parmi les tubes criblés. La moelle contient quatre canaux oléifères qui correspondent aux quatre canaux corticaux et aux quatre séries de feuilles ; ces canaux médullaires manquent dans l'entrenœud inférieur de la tige aérienne ; comme dans le rhizome, ils sont interrompus aux nœuds et ne se prolongent pas dans les feuilles.

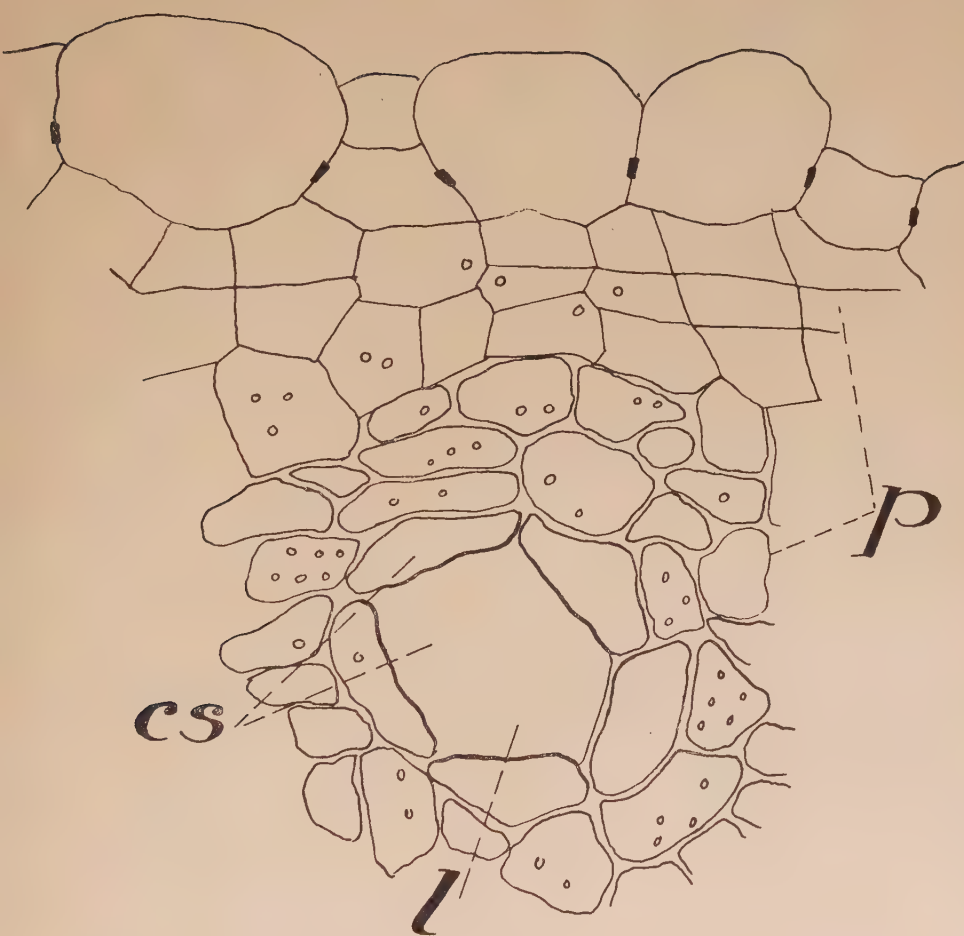
Le canal cortical, au contraire, passe dans le pétiole et s'y prolonge, d'abord dans le parenchyme inférieur au faisceau libéro-ligneux ; il cesse dans le limbe, vers le milieu de sa longueur.

Par contre, le parenchyme du limbe contient de nombreuses poches sécrétrices, sphériques ou ovoïdes, qui sont, pour ainsi dire, des canaux oléifères interrompus et émiettés. Les *poches oléifères des Mille-pertuis* ne sont donc qu'une portion d'un vaste système de canaux sécréteurs répandu dans tout le corps de la plante, et qui était, jusqu'ici, demeuré inconnu. Cette transformation locale des canaux sécréteurs en poches sécrétrices dans le parenchyme foliaire est un phénomène qui n'est pas sans exemple dans d'autres familles : on l'observe, notamment, chez les Composées dans les TAGETES, chez les CLUSIACÉES, et dans les MAMMEA. L'unique faisceau libéro-ligneux qui passe dans la feuille entraîne avec lui l'arc de péricycle qui lui correspond, avec les canaux oléifères qui s'y trouvent ; il emporte aussi, naturellement, ses canaux libériens. Vers la base de la feuille, les premiers sont entaillés dans l'arc de collenchyme que forme le péricycle sous l'endoderme, et en dehors du liber ; ils suivent tout le cours des nervures, diminuant de nombre à mesure qu'elles se ramifient, se réduisant à l'unité dans les plus petites. Les seconds sont disposés en arc dans le liber secondaire du faisceau, et cessent avec lui.

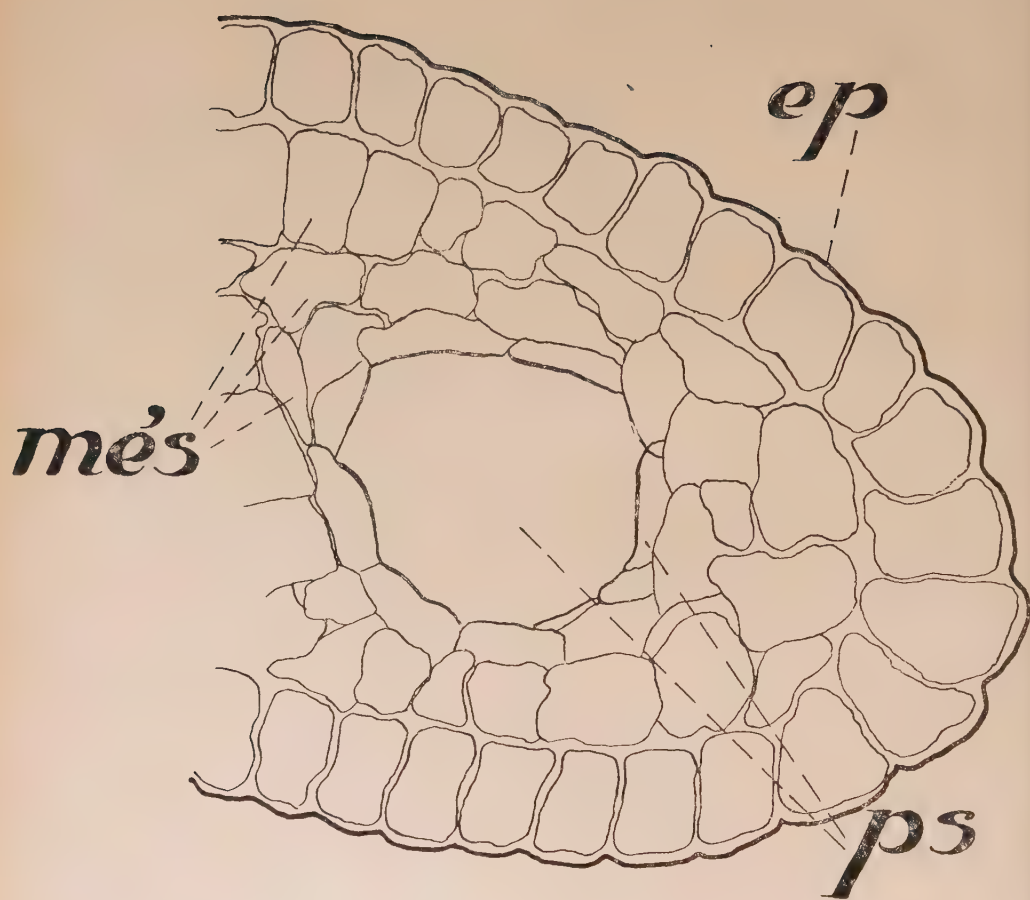
En résumé, l'*Hypericum calycinum* possède quatre systèmes de canaux oléifères : 1° Les canaux primaires médullaires, propres à la tige ; 2° les canaux primaires corticaux appartenant à la tige, et se prolongeant dans la feuille, où ils seront bientôt remplacés par des poches sécrétrices ; 3° les canaux



- Section transversale d'une tige d'*Hypericum floribundum*. Les cellules-mères des canaux sécréteurs appartiennent à l'assise la plus externe du péricycle. Les cellules qui avoisinent le canal sécréteur contiennent des grains d'amidon.
- Canal large. L'assise externe du péricycle donne naissance à du suber, *sub*, qui exfolie toute l'écorce.



– Le même canal développé et bordé par cinq cellules.



— Coupe de l'extrémité d'une feuille d'*Hypericum calycinum*. Mésophylle encore homogène, poche sécrétrice entourée déjà d'un grand nombre de cellules.

primaires du péricycle, qui s'étendent à la fois dans la racine, dans la tige, et dans la feuille ; 4° les canaux secondaires du liber, également répandus dans toute l'étendue du corps végétatif, moins, cependant, dans la feuille que dans les deux autres organes.

Dans les autres Millepertuis, la racine conserve une structure assez uniforme, et semblable à celle que nous venons d'étudier. La disposition si singulière des canaux sécréteurs dans le péricycle, à droite et à gauche de chaque faisceau libérien, s'y retrouve, avec une grande netteté dans plusieurs espèces, notamment dans l'*H. elodes*. On l'observe aussi dans le pivot, qui est binaire, formé de deux faisceaux ligneux confluant en une bande diamétrale, et de deux faisceaux libériens : à droite et à gauche de chacun de ceux-ci, le péricycle renferme un étroit canal oléifère. L'écorce ne comprend que cinq assises de cellules : l'assise pilifère, l'assise subéreuse, et trois assises superposées à cellules aplaties, dont la dernière est l'endoderme (*Hypericum montanum*, *Hypericum elatum*). Les canaux sécréteurs conservent cette même situation dans toute l'étendue de la tige.

La tige et la feuille offrent, au contraire, suivant les espèces, quelques modifications dont il faut signaler, ici, les principales.

« Je n'ai trouvé, écrit Ph. Van Tieghem, de canaux dans l'écorce de la tige que chez l'*Hypericum elodes* et l'*Hypericum androsœmum*. Aussi bien dans

la tige aérienne que dans le rhizome de l'*Hypericum elodes*, la zone externe de l'écorce lacuneuse contient un grand nombre de canaux oléifères très étroits. bordés ordinairement par quatre petites cellules spéciales et disposées en un seul cercle, habituellement dans la troisième assise de l'écorce s'il s'agit du rhizome ; dans la première, sous l'épiderme, s'il s'agit de la tige aérienne. Dans l'*Hypericum androsæmum*, les canaux corticaux se réduisent à deux, situés dans les deux côtes saillantes qui correspondent aux feuilles supérieures. Dans l'*Hypericum balearicum*, chacune des deux côtes saillantes contient, au lieu d'un canal continu, une série de poches sécrétrices fortement proéminentes au dehors. Dans la majorité des espèces, l'écorce est dépourvue de canaux et de poches (*Hypericum perforatum*, *tetrapterum*, *hirsutum*, *parviflorum*, *hircinum*, *tournefortii*, *prolificum*, etc...). Les canaux médullaires sont encore plus rares que les corticaux ; à part l'*Hypericum calycinum*, toutes les autres espèces étudiées s'en sont montrées dépourvues, même celles qui ont des canaux dans l'écorce, comme les *Hypericum elodes*, *androsæmum*, *balearicum*, etc...

La feuille a toujours le parenchyme de son limbe parsemé de poches sécrétrices, même dans les espèces où ces poches ne sont pas visibles à l'œil nu, et où les botanistes descripteurs déclarent le limbe non pointillé (*Hypericum androsæmum*, *elodes*, *quadragulum*, etc...) .

Étude Anatomo-histologique de l'*Hypericum perforatum*

Voici, pour plus de précision, les détails histologiques particuliers à l'*Hypericum perforatum*. En confrontant les données ci-après avec l'étude si précise de PH. VAN TIEGHEM, dont nous venons d'analyser ou de citer les principaux passages, il sera facile de justifier l'usage expérimental que nous avons fait de l'*Hypericum perforatum*, non seulement à cause de la relative facilité de sa récolte dans notre région, mais aussi parce qu'il constitue, avec l'« *Hypericum crispum* », un matériel botanique très adapté à l'étude de l'Hypéricine.

Anatomie de l'« *Hypericum perforatum* ».

1. *Racine*. — Suber constitué par quelques assises de cellules tabulaires légèrement colorées en brun ; parenchyme cortical comprenant 8 à 10 assises de cellules aplaties tangentiellement, et de nombreux canaux sécréteurs de forme ovulaire ; endoderme et péricycle non différenciés ; liber uniquement constitué de tubes criblés ; bois formé de

vaisseaux noyés dans un parenchyme lignifié (on y remarque la présence de rayons médullaires étroits), moelle nulle.

2. *Tige.* — Epiderme glabre ; parenchyme cortical collenchymateux dans sa zone externe (il est constitué par des cellules arrondies dans sa zone interne) ; endoderme et péricycle non différenciés ; liber normal, avec présence de quelques rares canaux sécréteurs ; bois constitué par des vaisseaux parfaits et par un parenchyme lignifié ; moelle très développée.

3. *Feuille.* — Epidermes à cellules papilleuses ; mésophylle hétérogène asymétrique, renfermant de nombreux nodules sécréteurs occupant parfois toute l'épaisseur du parenchyme ; nervure médiane convexe concave, comprenant un système libéro-ligneux ovalaire entouré par un endoderme et un péricycle distincts.

Appareil sécréteur de l'*Hypericum perforatum*

L'appareil sécréteur se compose de :

1° *Canaux sécréteurs* localisés dans la partie externe de l'écorce primaire, dans le liber secondaire, le péricycle, la moelle ; l'un des canaux de l'écorce se prolonge dans la nervure médiane de la feuille.

2° *Poches sécrétrices* schizolysigènes, dans le parenchyme de la feuille, formant des points transparents ou brunâtres. Les points transparents des feuilles, que l'on prend maladroitement pour des trous, selon la remarque de GEOFFROY ; les points noirs que l'on découvre sur les bords de ses pétales ; et les tubercules qui sont situés à la surface de ses fruits sont autant de petites vésicules remplies d'huile essentielle.

Le mode de formation de ces canaux sécréteurs et de ces poches sécrétrices a donné lieu à de nombreuses controverses entre botanistes.

FRANK explique, de la façon suivante, le développement des poches et des canaux sécréteurs : tout d'abord, présence d'une cellule ronde à parois minces, mais sans chlorophylle, riche en protoplasma granuleux, et d'un diamètre un peu supérieur à celui des cellules à chlorophylle. Le protoplasma de la cellule-mère de la poche se divise en quatre parties secondaires, entre lesquelles apparaissent des cloisons plus ou moins nettes. Une cloison perpendi-

culaire aux deux précédentes se forme alors, de sorte que la cellule-mère donne huit cellules-filles, qui sont réunies au centre de la cellule primitive. A ce moment apparaît, au point où se touchent ces cellules, une goutte d'huile qui va du centre vers la périphérie, et qui pousse les cellules vers l'extérieur. Ces cellules bordent le réservoir ainsi formé.

Pour FRANK, ce serait les cellules ayant servi à la formation de la poche qui sécrèteraient l'huile essentielle.

Les cellules de bordure subissent une modification particulière : leur membrane, primitivement hémisphérique, devient plane ; par suite, l'espace intercellulaire augmente, et la substance sécrétée est aussi plus abondante.

MARTINET, d'une part, CHATRIN, d'autre part, prétendent que la formation des poches et des canaux sécréteurs est due à la destruction et la résorption du tissu cellulaire ; lorsque la glande est arrivée à son état complet de développement, les cellules centrales se désagrègent et disparaissent ; les autres persistent quelque temps puis se rompent, en mettant en liberté l'oléo-résine qu'elles contiennent.

Formation des canaux. — Lorsque la poche sécrétrice est terminée, le même phénomène qui lui a donné naissance se produisant dans les cellules péri-cycliques situées au-dessus et au-dessous de celle que nous avons considérée, il se constitue non plus un simple réservoir clos, mais une série de réservoirs superposés qui formeront un long canal.

VAN TIEGHEM dit que c'est par écartement, et non uniquement par résorption des cellules, que se forment les pochés sécrétrices.

Après avoir suivi la formation de ces poches, il nous a semblé que leur développement s'effectuait selon le mode schizolysigène, et non par le seul écartement des cellules, comme le prétendait VAN TIEGHEM.

Ajoutons, pour terminer ce chapitre, un mot sur les **caractères chimiques très généraux**, que permettent d'entrevoir, sans le secours de l'analyse rigoureuse, les seuls examens immédiats qui accompagnent nécessairement l'étude botanique de la plante.

On remarque au premier examen que l'odeur balsamique de cette plante est toujours plus prononcée dans les fleurs et les feuilles, surtout quand on les écrase, que dans les autres parties. Sa saveur est amère, légèrement styptique, un peu salée. Elle contient beaucoup d'huile volatile qui ressemble à celle de la térébenthine.

A l'exemple de la plupart des plantes de la même famille, elle renferme un suc gommo-résineux, visqueux, un peu amer, qui paraît être la principale cause de ses propriétés médicales.

Outre le suc gommo-résineux, les fleurs de Millepertuis renferment du tanin, de la pectine, et deux matières colorantes : l'une jaune et soluble dans l'eau, l'autre, rouge, de nature résineuse, soluble dans

l'alcool et l'huile bouillante, appelée « Hypéricine », dont nous ferons une étude plus approfondie dans la deuxième partie de notre travail.

Apparition primitive du rouge d'Hypéricum

Nous croyons devoir ajouter à ce chapitre de Botanique générale le compte-rendu d'une expérience de Physiologie végétale, qui nous a paru un complément indispensable aux données qui précèdent.

L'étude anatomo-histologique nous a bien montré, chez la plante adulte, la présence de formations sécrétrices où l'on trouve, commodément et communément, la matière colorante rouge, le pigment dont nous avons entrepris l'étude physico-chimique et photodynamique ; mais, aucune de nos recherches bibliographiques ne nous a permis de fixer la date de cette apparition. — Existait constamment dans la plante déjà évoluée, on devait logiquement se demander à quel stade de l'évolution du végétal il faisait sa première apparition. Cette question est d'un grand intérêt : de sa solution peut découler une suite d'hypothèses d'ordre chimique sur la véritable nature du pigment et sur les phénomènes primordiaux de cette pigmentogénèse.

Nous avons cultivé au laboratoire, sur des milieux artificiels, des graines d'« *Hypericum perforatum* ». Il suffit, à vrai dire, de placer ces graines dans une boîte de Pétri, dont le fond comporte plusieurs doubles de papier filtre légèrement humidifiés,

La germination se fait plus ou moins rapidement (influences saisonnières, température, etc.), et l'on pratique des examens répétés.

Dès l'apparition des feuilles cotylédonaire, on note le développement des chromatophores, au nombre de deux seulement, et placés symétriquement. On les examine plus facilement en observant la face inférieure de la feuille.

Il semble donc évident que le pigment est lié, d'une manière essentielle, à la biologie de la plante. Son apparition en même temps que celle de la chlorophylle pose le problème de l'interdépendance des deux pigments. Il est difficile, dans l'état actuel de nos recherches, de fixer le rôle et l'origine exacts du « rouge » ; nous en sommes réduits à quelques hypothèses de travail.

Pour faciliter cette étude, nous avons modifié la technique de préparation du milieu, en y incorporant comme solidifiant de l'agar-agar, et en essayant d'obtenir un ensemble minéral favorable, par dissolution dans l'eau des éléments minéraux des sols sur lesquels pousse habituellement le végétal.

Ces petits détails de technique pourront d'ailleurs, éventuellement, servir aux chercheurs qui désireraient suivre commodément, au microscope stéréoscopique, les premiers stades de développement d'un végétal placé sur un milieu chimique déterminé avec quelque précision.

DEUXIEME PARTIE

Documents Généraux
et
Recherches Personnelles
sur la Physico-chimie
du Rouge d'Hypéricum

a) Conservation des plantes

En possession des données de Botanique générale, de l'histologie des formations sécrétrices et d'une connaissance précise de la date d'apparition du pigment, nous pouvions aborder son étude physico-chimique aux divers âges de la plante.

L'expérience nous a montré que le pigment des feuilles cotylédonaire et celui qui subsiste encore dans les plantes desséchées n'étaient qu'une seule et même substance, témoignage d'une activité propre du végétal, lié à son métabolisme spécifique.

Afin de pratiquer des études suivies et renouvelées sur le pigment, ainsi que pour réaliser au laboratoire une intoxication expérimentale se rapprochant, par les effets produits, de celle que l'on peut observer, d'une manière fortuite, chez l'animal, nous avons voulu constituer un stock de plantes fraîches, bien vivantes, représentant une réserve pigmentaire photodynamique active. Nous avons procédé, pour cette récolte, de la manière suivante : Les plants indigènes d'« *Hypericum perforatum* » vivant à l'état sauvage ont été déplacés de leur habitat naturel et emportés avec la terre sur laquelle ils vivaient, normalement. Mais l'abondance et le grand développement des racines, qu'on ne peut enlever dans toute leur intégrité, nuit à la survie parfaite du végétal transplanté,

privé, ainsi, d'une partie de ses éléments biogènes. Pour éviter le dépérissement rapide des végétaux à tiges déjà développées (0^m 60 à 0^m 70) nous avons eu l'idée de placer sur ces tiges facilement flétrissables des manchons de gaze et d'ouate, espacés de 10 en 10 centimètres, et qui, pendant la première semaine (après le transport), ont été mouillés plusieurs fois par jour. Les tiges étaient soutenues par un tuteur qui permettait la fixation des manchons. Grâce à ce simple dispositif qui apporte à chaque segment végétal une petite quantité d'eau, la circulation se rétablit et supplée temporairement au manque d'apport par les racines traumatisées. — Il nous a paru utile d'indiquer ce petit détail de technique qui, appliquée à d'autres cas que l'*Hypericum*, peut permettre de transporter et d'utiliser au laboratoire, pour une étude suivie, des végétaux poussant, par exemple, dans des zones géologiques à caractères précis, dans des conditions d'altitude et de climat dont la suppression, par le fait du transplantement, s'ajoute aux traumatismes divers subis par la plante durant le transport.

Grâce à ce procédé, nous avons pu ranimer après flétrissement, puis conserver de longs mois, au laboratoire, des spécimens recueillis, à l'altitude de 1.080 mètres, dans le massif de Chréa-les Glacières.

Etude physico-chimique du rouge d'Hypéricum

Le matériel végétal assuré, nous avons pu entreprendre nos recherches.

La littérature n'est pas riche en documents. Le mémoire le plus important à notre connaissance est celui de CZERNY. C'est dans cette étude fondamentale que nous avons pris les modèles de nos premiers essais qui nous ont conduit à l'utilisation d'un nouveau solvant qui n'est pas mentionné dans le mémoire : la *Pyridine*.

Nous reproduisons d'abord, ci-après, de larges extraits de l'important travail de l'auteur allemand, qui a fait l'analyse chimique et spectroscopique du « Rouge. » Nous les ferons suivre du détail de nos propres mesures, d'une technique originale de préparation pour l'examen microspectroscopique direct, et d'une comparaison entre le spectre du Rouge d'Hypéricum (ou Hypéricine), et celui de l'Oxyhémoglobine.

b) Extraction du rouge d'Hypéricum

I. — Premier type de préparation

« Des feuilles corollaires sont mises à macérer dans l'eau, pressées et séchées, puis traitées à l'alcool à 90° dans une proportion de 1/5. La magnifique teinture rouge obtenue après une extraction de 8 jours est agitée avec de l'éther de pétrole tant que la matière colorante jaune (extraite en même temps) se dissout. La solution « déséthérisée » fournit, après évaporation de l'alcool, le rouge hypérique, sous la forme d'une masse amorphe d'un vert scarabée, presque noir. »

II. — Second type de préparation

Mais CZERNY préfère traiter des fleurs entières :

« Les fleurs cueillies sont d'abord séchées, puis épuisées par l'alcool à 80-90°, et les extraits alcooliques réunis concentrés par distillation. Le liquide en résultant (pour éliminer la quantité principale de sels) est mélangé avec un égal volume d'éther ; la solution éthéro-alcoolique séparée ; ensuite, la solution alcoolique restant après l'élimination de l'éther agitée avec de l'éther de pétrole jusqu'à ce que celui-ci ne se colore plus.

« La solution ainsi obtenue est d'abord libérée de l'éther de pétrole par distillation, puis concentrée

un peu et mélangée avec un grand excédent d'éther. A nouveau, une masse brun-jaune, grasseuse, sirupeuse, se dégage. La solution éthéro-alcoolique déversée de celle-ci fut distillée jusqu'à un petit volume, pour enlever la plus grande partie d'alcool. Le résidu obtenu fut, à nouveau, additionné d'un excédent d'éther, et gardé ainsi pendant 24 heures. Alors l'éther fut agité avec une solution de soude à 0,1 %. A ce moment, la matière colorante presque tout entière passe dans la solution aqueuse qui, acidulée et agitée avec de l'éther acétique, cède à celui-ci la matière colorante rouge. Ensuite la solution d'éther acétique fut distillée à fond, et le résidu fut séché sur de l'acide sulfurique et des morceaux de sodium dans un dessiccateur à vide. De cette façon, on obtient une substance amorphe presque noire qui, sous la lumière transmise, apparut presque rouge-grenat. Elle était exempte de N, S, et P, et contenait des traces insignifiantes de FER. Elle était très facilement soluble dans l'alcool et dans l'éther acétique, moins facilement dans l'éther ordinaire, et presque insoluble dans le chloroforme, le sulfure de carbone et le benzol. »

« Je n'ai pu confirmer les communications de DIÉTERICH prétendant que la matière colorante se dissout avec une coloration verte dans ces trois derniers dissolvants.

« L'analyse élémentaire de cette substance fournit les valeurs suivantes (toutes les valeurs sont calculées sur une substance libre de cendres) :

0,1487 gr. de substance donne : 0,1031 gr. H^2O
0,3271 gr. CO^2
0,0024 gr. cendres
correspondant à 7,82 % H
60,97 % C

0,1213 gr. de substance donne : 0,0810 gr. H^2O
0,2656 gr. CO^2
0,0019 gr. cendres
correspondant à 60,66 % C
7,53 % H

« D'autres essais ont cependant démontré que la substance obtenue n'est pas une matière uniforme. Car, lorsque j'essayai d'obtenir cette substance et, si possible, en même temps cristalline, par dissolution dans une quantité minime d'alcool absolu chaud, la solution dégagea dans le froid un dépôt blanc, tandis que la substance obtenue du liquide filtré, après évaporation de la solution et séchage au dessiccateur à vide, montra une teneur supérieure en C et inférieure en H, ainsi qu'il s'ensuit du résultat des analyses élémentaires auxquelles il a été procédé :

0,1170 gr. de substance donne : 0,0687 gr. H^2O
0,2595 gr. CO^2
0,0012 gr. cendres
correspondant à 6,59 % H
61,11 % C

0,1260 gr. de substance donne : 0,0714 gr. H^2O
0,2827 gr. CO^2
0,0011 gr. cendres
correspondant à 6,35 % H
61,72 % C

Analysant la matière colorante rouge, CZERNY obtient, à l'analyse élémentaire, les chiffres suivants :

0,1006 gr. de substance donne : 0,0515 gr. H^2O
0,2356 gr. CO^2
0,0051 gr. cendres
correspondant à 5,99 % H
67,28 % C

III. — Troisième type de préparation

Dans une autre série d'expériences, la technique d'extraction reçut quelques modifications :

« Des fleurs séchées furent traitées à l'alcool de 80 à 90° ; les extraits alcooliques réunis furent réduits par distillation à un petit volume, puis précipités avec une solution alcoolique de sel de saturne. La matière filtrée du précipité à base de plomb fut concentrée davantage et mélangée avec un triple volume d'éther, ce qui entraîna une autre petite précipitation. La solution d'alcool-éther, filtrée, fut séparée du *Pb*, comme précédemment indiqué ; puis, par agitation avec une solution liquide d'acé-

tate de sodium à 1 % — (dans cette circonstance, on doit ajouter une quantité suffisante d'éther pour maintenir la solution éthérée au volume primitif) ,— le pigment rouge fut extrait. »

« De cette solution aqueuse, la matière colorante peut être obtenue de deux manières différentes : soit sous la forme d'un résidu marron foncé, par précipitation à l'esprit de sel (prép. 1) ; ou bien par agitation avec l'éther acétique (prép. 2). Il est probable que la précipitation à l'esprit de sel nous amène rapidement à des préparations plus pures. »

« La substance obtenue des solutions dans l'éther acétique après l'évaporation de l'éther acétique et après séchage dans le dessiccateur à vide, donne, à l'analyse élémentaire, les résultats suivants :

0,1035 gr. de substance donne :	0,0607 gr. H ² O
	0,2326 gr. CO ²
	0,0020 gr. cendres
correspondant à	6,64 % H
	62,49 % C

0,1160 gr. de substance donne :	0,0665 gr. H ² O
	0,2627 gr. CO ²
	0,0020 gr. cendres
correspondant à	6,77 % H
	62,85 % C

« Dès les essais préparatoires, j'ai pu remarquer

à plusieurs reprises que, en acidulant une solution alcoolique du pigment avec de l'esprit de sel, un résidu cristallin était formé ; j'ai donc essayé d'obtenir, de cette façon, une matière colorée cristallisée. »

« Au premier essai, j'ai dissous dans une petite quantité d'alcool le dernier reste de la matière colorante (provenant des essais antérieurs), puis la substance obtenue par la précipitation à l'esprit de sel de solutions aqueuses d'acétate de sodium. Ensuite, j'ai ajouté goutte à goutte, à la solution, de l'esprit de sel (jusqu'à la disparition de la fluorescence). Au cours des 24 heures de refroidissement, un dépôt se forma, qui se composait de toutes petites druses microscopiques, globuleuses, d'un brun-orange, et dont la structure laissait reconnaître une disposition radiaire assez vague de cristaux aciculaires. Après addition d'une goutte d'ammoniaque sous la lamelle, les druses se décomposaient en petits grains rouge-violet. »

« Le résidu, assemblé sur un filtre et lavé à l'eau, fut alors analysé (après avoir été séché dans le vide) :

0,1076 gr. de substance donne : 0,0394 gr. H^2O

0,2645 gr. CO^2

0,0016 gr, cendres

correspondant à 4,13 % H

68,04 % C

Voici des détails d'analyse fixant les proportions :

« J'ai obtenu p. e. dans le dernier essai de 2.470

GRAMMES DE FLEURS SÉCHÉES (correspondant à 12,350 kilogrammes de fleurs vertes) environ 6,6 grammes de pigment brut et de 4,1 de celui-ci 0,57 grammes de pigment pur, de sorte que le produit en pigment pur retiré de la quantité de fleurs travaillée peut être estimée à 1 GRAMME ENVIRON. »

Les valeurs trouvées lors des analyses du pigment pur, pour C, H et O, correspondent le mieux possible à une formule



Un tel composé exigerait théoriquement :

$$\text{C} = 68,08 \%$$

$$\text{H} = 3,58 \%$$

$$\text{O} = 28,36 \%$$

La substance trouvée contenait en moyenne :

$$\text{C} = 68,10 \% \quad \text{H} = 4,10 \% \quad \text{O} = 27,80 \%$$

Avec ce pourcentage, cette matière colorante fréquemment dénommée *Hypéricine* se rapproche assez des matières colorantes du groupe des flavones : les matières à classer dans ce groupe sont caractérisées par le fait de posséder, dans leur formule empirique, 15 atomes de C, et de fournir, habituellement, par fusion potassique, de l'acide protocatéchique et de la Phloroglucine. »

Dans ce mémoire, F. CZERNY écrit encore :

« Je n'ai pu fonder exactement, par voie expérimentale, l'opinion disant que le pigment ferait partie des matières colorantes du groupes des flavones, parce que la quantité de pigment pur qui était à ma disposition était trop petite... »

Et voici les résultats des essais de dissolution dans des solvants variés :

« Les solutions d'Hypéricine dans l'alcool, l'éther acétique et l'éther ont une teinte rouge-sang ; diluées, elles montrent une nuance de violet et présentent une magnifique fluorescence d'un rouge ardent. Cette fluorescence est tellement prononcée que même des solutions qui, sous la lumière transmise, apparaissent presque sans couleur, accusent celle-ci néanmoins assez nettement dans la lumière reflétée en apparaissant rouge-sanguin. La fluorescence des solutions s'aperçoit le mieux dans l'éther acétique.

Les solutions d'Hypéricine dans des solutions d'acétate de sodium sont teintées plus en violet ; leur couleur ressemble plutôt à celle de l'Hémoglobine réduite, leur fluorescence est indistincte. »

c) Examen spectroscopique

D'après WOLFF, une solution alcoolique d'Hypéricine montre deux bandes d'absorption :

α : entre $\lambda = 606 \text{ m}\mu - 570 \text{ m}\mu$

β : entre $\lambda = 558 \text{ m}\mu - 544 \text{ m}\mu$

Après avoir répété les expériences des auteurs antérieurs, notamment celles de CZERNY, l'examen spectroscopique nous a conduit à des résultats se traduisant par des chiffres identiques aux leurs .

Nous avons alors entrepris de modifier leurs techniques :

1° en opérant sur le pigment non altéré par des manipulations chimiques diverses ,en utilisant le " jus pur ", le " suc vésiculaire " examiné au microspectroscope.

2° en essayant de nouveaux solvants. — De tous les essais, que nous ne relaterons pas ici, il résulte que les préparations microscopiques les plus faciles à réaliser pour l'examen spectroscopique sont obtenues par l'usage de la Pyridine, qui permet de faire des montages durables.

Notes personnelles

Expériences antérieures. — Les expériences et les mesures de WOLFF, relatées par CZERNY, fixent aux longueurs d'onde :

$$\lambda = 588 \text{ } m\mu \text{ et } \lambda = 550 \text{ } m\mu$$

la position des axes de bandes du Rouge d'Hypericum (nous ne considérons, ici, que les deux premières bandes).

Spectre « in situ »

En utilisant le procédé par écrasement — étalement des formations chromatophores, — nous avons obtenu « in situ », au microspectroscope, directement et sans intervention de solvant, le résultat suivant [*il s'agit de « jus pur » de « suc vésiculaire »*] on aperçoit alors 2 bandes nettement et parfaitement visibles; une troisième bande plus faible.

La bande la plus large s'étend de :

$$\lambda = 608 \text{ } m\mu \text{ à } \lambda = 575 \text{ } m\mu$$

la deuxième s'étend de :

$$\lambda = 560 \text{ } m\mu \text{ à } \lambda = 540 \text{ } m\mu$$

une troisième bande bien plus faible paraît occuper la zone comprise entre :

$$\lambda = 520 \text{ } m\mu \text{ et } \lambda = 510 \text{ } m\mu$$

Les axes de ces trois bandes sont :

a) $\lambda = 596 \text{ m}\mu$

b) $\lambda = 550 \text{ m}\mu$

c) $\lambda = 515 \text{ m}\mu$

Une zone obscure, mal délimitable, occupe une région allant de :

$$\lambda = 500 \text{ m}\mu$$

vers le bleu.

Spectre dans la Pyridine

Les mesures faites en milieu Pyridine nous ont donné les résultats suivants :

1^{re} bande large. — $\lambda = 587 \text{ m}\mu$

La bande s'étend de :

$$\lambda = 601 \text{ m}\mu \text{ à } \lambda = 573 \text{ m}\mu$$

Ces chiffres sont le résultat moyen d'un très grand nombre de mesures faites au cours des essais entrepris pour fixer notre technique.

2^e bande plus étroite. — $\lambda = 555 \text{ m}\mu$

Cette bande occupe, de part et d'autre de son axe, une largeur de $20 \text{ m}\mu$ environ.

Ces chiffres, comparés à ceux donnés par les auteurs, aux résultats obtenus dans l'examen spectro-

copique direct du jus coloré, montrent de faibles variations dans les chiffres et un petit déplacement vers la partie des plus grandes longueurs d'onde.

Le procédé d'examen microspectroscopique du « jus frais », que nous avons indiqué, nous paraît excellent et le meilleur, le plus facile aussi à mettre en œuvre pendant la période de floraison. Il a l'avantage de la simplicité, et celui de permettre l'observation d'un pigment qui n'a pas été modifié par un traitement chimique.

Cependant, si l'on désire examiner les chromatophores des feuilles en dehors de la période végétative, où l'on peut opérer comme nous venons de l'indiquer, la technique qui nous a paru la plus facile à mettre en œuvre est la suivante : on place la partie à examiner, et contenant du pigment, entre lame et lamelle, dans une goutte de Pyridine. En suivant l'action au microscope, on voit la tache pigmentaire sombre s'éclaircir et se présenter rapidement sous la forme d'un disque dont le centre apparaît coloré d'un beau rouge qui, rapidement, occupe sous le microscope un champ assez vaste pour permettre un examen microspectroscopique.

Montage de préparations destinées à être conservées

Nous avons appliqué à l'obtention de préparations d'assez grande durée la technique si précieuse imaginée par E. DERRIEN, mise dans la pratique médico-légale par E. DERRIEN et J. SARDA, et qui permet de

détecter sur des tissus la matière colorante du sang, en chauffant légèrement le fil extrait d'une tache suspecte, dans une solution de Baume de Canada-Pyridine.

Ici, la préparation se réalise aisément, et le spectre conservé peut être montré plusieurs jours après sa préparation. Dans le cas du Rouge, il est inutile de chauffer la préparation : on monte simplement la partie végétale contenant le Chromatophore dans le Baume du Canada dissous dans la Pyridine, et dans les proportions suivantes :

Baume sec 10 grammes

Pyridine 20 grammes

Il serait peut-être possible d'étendre cette technique de montage et de préparation durable à un grand nombre de pigments trouvés en physiologie végétale, et dont le spectre est un élément d'identification. Naturellement, une expérience préalable doit permettre de repérer ceux d'entre eux que n'altèrent pas le solvant « Pyridine ».

d) Comparaison entre le spectre de l'hypéricine et celui de l'oxyhémoglobine

Dès les premières observations, la ressemblance du spectre de l'Hypéricine avec celui de l'Oxyhémoglobine fut signalée. CZERNY, parlant des expériences de WOLFF, écrivait : « Cette matière colorante est très intéressante, non pas seulement par sa couleur, dont la ressemblance avec celle de l'Hémoglobine est frappante, mais aussi par son spectre d'absorption qui, selon les analyses de WOLFF, possède une ressemblance remarquable avec celui de l'Oxyhémoglobine. Vu la très proche parenté entre l'hémoglobine animale rouge et la chlorophylle végétale verte, cette qualité de la dite matière colorante parut d'autant plus intéressante. »

Cette ressemblance spectrale n'est, cependant, pas capable de créer une confusion, car, en dehors des caractères différentiels des deux pigments, un examen un peu attentif permet de les identifier spectroscopiquement sans erreur.

Les deux bandes de l'Oxyhémoglobine et les deux premières bandes du Rouge d'*Hypericum* n'ont pas, quand on rapproche les deux spectres dans un même champ, la même largeur ni les mêmes maxima d'absorption. Les auteurs ont donc voulu

indiquer, tout simplement, que ces bandes occupaient à peu près les mêmes régions du spectre visible, et que leurs axes avaient des positions assez voisines, ce qui ne peut prêter à confusion que lors d'un examen superficiel ; disons, aussi, sans commémoratifs.

Mais ces parentés ne sont pas négligeables et rendent très intéressante l'étude du Rouge d'Hypéricum, substance fluorescente d'activité photodynamique intense, puisqu'en rapprochant sa couleur et son spectre de la couleur et du spectre de l'oxyhémoglobine, on est amené à se demander si ce dernier pigment n'est pas susceptible de former écran sur le premier, et, partant, d'intervenir dans une certaine mesure pour modifier l'activité photodynamique.

Nous nous rapporterons aux auteurs classiques pour la description détaillée du spectre de l'oxyhémoglobine.

LAMBLING (*Précis de Biochimie*, 3^e édition, p. 254), donne les précisions suivantes : « La dissolution aqueuse d'Oxyhémoglobine présente un spectre d'absorption remarquable, et dont l'aspect le plus caractéristique est obtenu pour des concentrations allant de 0 gr. 10 à 0 gr. 60 par litre, ou pour les dilutions de sang de $1/25^e$ à $1/100^e$, ces liquides étant pris sous une épaisseur de 1 cm.

« On aperçoit, dans ces conditions, entre D et E, donc dans la région du jaune et du vert, deux bandes, la première située près de D, un peu plus étroite et à bords plus nets, la seconde voisine de E,

un peu plus large et à bords plus estompés. Leur milieu, qui se déplace très peu (quand on fait varier la dilution), correspond pour la première bande à :

$$\lambda = 577 \text{ m}\mu$$

et pour la seconde à :

$$\lambda = 539 \text{ m}\mu$$

DERRIEN et FONTÈS (*Chimie Biologique médicale*, 2^e édition 1927) donnent des chiffres identiques. « Les axes de ces bandes correspondent, respectivement, aux longueurs d'onde :

$$\lambda = 578 \text{ m}\mu$$

et :

$$\lambda = 542 \text{ m}\mu$$

Les chiffres suivants sont donnés par WOLFF pour l'Hypéricine. Nous citons, pour plus de précision, le texte de CZERNY.

« D'après WOLFF, une solution d'Hypéricine alcoolique montre deux bandes d'absorption :

$$\alpha : \text{entre } \lambda = 606 \text{ m}\mu \text{ — } 570 \text{ m}\mu$$

$$\beta : \text{entre } \lambda = 558 \text{ m}\mu \text{ — } 544 \text{ m}\mu$$

« En vérité, la ressemblance du spectre de l'Hypéricine avec celui de l'oxyhémoglobine est frappante. » Cependant, comme le dit WOLFF lui-même, « de la mesure exacte des limites des deux bandes d'absorption des spectres, pour une intensité à peu près égale, il résulte une différence nette de leur situation. »

« Bien qu'il existe une assez grande ressemblance entre les deux spectres, on peut, néanmoins, les distinguer ; car la première bande de l'Hypéricine est plus large que la seconde, tandis que pour l'oxyhémoglobine la proportion en est renversée. »

Nos expériences et nos observations concordent parfaitement avec celles de l'auteur précité. Frappé comme lui par la couleur du pigment, sa ressemblance chromoscopique avec l'oxyhémoglobine, nous avons, dès un premier examen — réalisé, « *in situ* », à l'aide d'un microspectroscope, sur les corpuscules colorés des feuilles, — remarqué l'inversion des bandes. C'est même, à première vue, ce qui frappe d'abord, et avant même qu'on ait pu situer l'axe de ces mêmes bandes. Nous dirons, donc, en considérant seulement la largeur des deux premiers espaces sombres caractéristiques des deux pigments : *Le spectre d'absorption de l'Hypéricine est l'image renversée du spectre de l'Oxyhémoglobine.* »

La différence entre les deux spectres s'accuse bien davantage si l'on fait agir, dans les deux cas, les réactifs.

On sait que, de l'Oxyhégoglobine, on passe à l'Hémoglobine dite réduite avec sa bande caractéristique (bande de réduction de STOKES), à la Méthémoglobine, à la Carboxyhémoglobine.

L'action des acides et des bases nous donne les aspects d'hématine alcaline, puis l'hémochromogène, spectre typique si souvent recherché comme test de la matière colorante du sang ; tandis que la perte

du fer unissant les quatre noyaux du Pyrrol conduit aux aspects spectroscopique si typiques des Porphyrines fluorescentes. Porphyrines acides, et, surtout, Porphyrines alcalines, avec leurs quatre bandes caractéristiques, permettant de fixer l'origine de ces pigments (Protoporphyrine, Coproporphyrine, Uroporphyrine, etc...).

CZERNY, parlant de l'Hypéricine, et envisageant les modifications spectrales provoquées par l'usage des réactifs, écrit encore : « Par suite d'une action alcaline, la couleur rouge des solutions alcooliques de l'Hypéricine se transforme en une couleur bleu-vert, ce qu'a déjà souligné DIÉTERICH. — Une telle solution possède une bande large, peu intense, qui se situe entre :

$$\lambda = 660 \text{ m}\mu - 540 \text{ m}\mu$$

Les solutions vertes montrent une faible fluorescence rouge, et leur couleur verte change peu à peu en vert olive, et enfin en brun jaune ; après quoi, le spectre disparaît. »

« Des acides minéraux dilués (HCl) provoquent peu de transformations caractéristiques dans les solutions alcooliques et éthériques d'Hypéricine. La couleur violette de la solution primitive change en une couleur rouge cerise. Les bandes d'absorption deviennent plus étroites, plus faibles, et moins distinctes. »

« Des solutions aqueuses d'Hypéricine (dans l'acétate de Na) sont précipitées par des acides minéraux dilués (précipitation brun-violet) ; de même par différentes solutions de sels inorganiques. »

« Bien caractéristique est l'action de l'acide sulfurique concentré, qui dissout l'Hypéricine sous forme de liquide vert émeraude, montrant une belle fluorescence rouge. Dans une telle solution se trouvent deux bandes d'absorption :

1° Une bande très large et très foncée, entre :

$$\lambda = 660 \text{ m}\mu - 620 \text{ m}\mu$$

puis une deuxième plus étroite et moins foncée, entre :

$$\lambda = 590 \text{ m}\mu \text{ et } 575 \text{ m}\mu$$

puis encore une bande très faible (ombre) entre :

$$\lambda = 540 \text{ m}\mu - 538 \text{ m}\mu$$

tandis que la fin violette

$$\lambda = 515 \text{ m}\mu$$

du spectre est obscurcie par une ombre diffuse. »

Il reste donc de la comparaison des données qui précèdent, un seul fait constatable au premier examen : Hypéricine et Oxyhémoglobine ont chacune deux bandes d'absorption (dans la zone de D et de E) dont les axes sont très voisins, mais qui, considérées dans leur largeur, sont inversées.

Nous avons proposé, dans un autre paragraphe, l'étude du spectre « *in situ* », l'élément végétal, le nodule coloré, étant examiné à l'état pur ou monté dans la pyridine, on pourra vérifier, en examinant de pareilles préparations, des aspects analogues à ceux indiqués plus haut.

TROISIEME PARTIE

Les Phénomènes
de Photosensibilisation

Recherches expérimentales

Sur la Photosensibilisation en général

L'organisme humain, soumis aux excitations de toutes les radiations lumineuses (visibles et même invisibles), offre à leur action son revêtement cutané-muqueux, dont il renforce le pouvoir de défense par des vêtements jouant le rôle d'écran.

Les animaux, soumis aux mêmes radiations lumineuses que l'homme, ne pouvant avoir de vêtements surajoutés comme moyen de protection, suppléeront à cela par une pigmentation plus abondante de leur peau.

Certaines races habitant les régions très insolées de l'Afrique Equatoriale présentent une pigmentation cutanée très intense allant jusqu'au noir d'ébène, et qui a pu être considérée soit comme la résultante d'un long habitat, soit comme une prémunition préalable contre une activité lumineuse particulièrement intense.

Si, pour une raison quelconque physique et extérieure, l'énergie radiante s'intensifie, il se produit un déséquilibre qui aura pour siège apparent : la peau et spécialement les régions découvertes chez l'homme, et les parties peu ou pas pigmentées chez l'animal. Les phénomènes de photosensibilité semblent devoir

être localisés à la peau — cependant, à ces phénomènes extérieurs s'en ajoutent d'autres, qui provoquent une perturbation générale. Outre les rayons visibles que nous fournit la lumière visible, il en existe deux autres sortes :

1° rayons à grande longueur d'onde : rouges et infra-rouges ;

2° rayons à longueur d'onde très courte : violet extrême et, surtout, ultra-violet.

Les premiers nous donneront des brûlures à divers degrés et des troubles généraux dits « coups de chaleur ».

Les seconds détermineront le « coup de lumière », l'« actinite », résultat d'une sensibilité banale à une radiation trop intense ou trop prolongée. Les individus à déficience pigmentaire réagissent avec excès à une atteinte photochimique qui ne serait pas perçue par un individu normal.

Cette réaction semble marquer la limite extrême de la photosensibilité. Que la nocivité de l'agent physique s'augmente, ou que s'accroisse, dans les limites physiologiques, la susceptibilité de l'organisme, il en résulte toujours un trouble aigu, d'abord dû au coup de lumière, suivi de phénomènes toxiques complexes, produits dans l'organisme tout entier par la libération vraisemblable, au niveau des zones irradiées, de substances anormales provenant de la destruction des édifices colloïdaux physiologiques atteints et perturbés par la lumière grâce à la sensibilisation par le fludiogène.

Cette sensibilisation résultant de l'apparition, dans l'organisme irradié, de substances dynamogéniques, créée au sein des tissus profonds, dans les glandes endocrines, une action traumatisante du type physico-chimique ayant sa source première dans l'interaction des trois éléments : corps fluorescent, lumière, colloïdes des tissus superficiels.

Ces phénomènes de photosensibilisation se rencontrent dans tous les règnes :

- a) minéral,
- b) végétal,
- c) animal.

a) *Règne minéral* : action d'une substance fluorescente sur une plaque photographique. — En 1873, expérience de VOGEL qui, par addition d'éosine à des plaques photographiques, voit que ces dernières sont impressionnées par des radiations de longueur d'onde qui, habituellement, ne les impressionnaient pas. Dans ce même domaine, expériences de GIFFARD, ALMARI et CASTELLANI, qui adaptaient la sensibilité du gélatino-bromure d'argent aux radiations rouges et vertes (addition d'érythrosine, orthochrome T, etc...).

A. et L. LUMIÈRE et BARBIER ont permis de pousser encore plus loin la sensibilité des sels d'argent vis-à-vis de radiations de plus grande longueur d'onde.

b) *Règne végétal*. — La réceptivité des végétaux

à la lumière est influencée par les substances fluorescentes. Expériences d'HERTEL, en 1905, avec l'éosine. Dans des conditions semblables, SILVIO REBELLO observait l'action photodynamique de la tétrabromofluorescéine, susceptible de retarder la croissance des bulbes de jacinthe.

Expériences de S. GALAVIELLE et F. PORTES, qui ont observé les modifications apportées à la germination des plantes par des substances fluorescentes. A une culture, en eau gélosée, de « *Lepidium sativum* », ils ajoutent une substance fluorescente dans certains tubes, et ils observent des modifications dans la forme extérieure de la plante et de la racine.

c) Règne animal. — Action sur les protozoaires et les Métazoaires semblable à celle observée dans les autres règnes.

En 1907, expériences de VON TAPPEINER et JOLD-BAUER (*Eosine* + *Paramœcium caudatum*).

LÆB : expériences sur les œufs de Coelentérés.

G. BOHN et DRZEWINA : sur le sperme d'Echinodermes.

MARACCI : sur les œufs de Batraciens.

En 1912, VICTOR HENRI remarqua que des protozoaires baignés dans un sol de *selenium colloïdal* fluorescent, puis irradiés, vivaient, à l'exception de ceux qui absorbaient des grains métalliques.

En 1900, TIBJE rapportait la sensibilisation des chevaux par l'éosine. — Seuls ceux qui paissaient

à la lumière mouraient. — Par la suite, de nombreux chercheurs firent des expériences sur la photosensibilisation et rapportèrent des accidents dus aux substances fluorescentes absorbées par des animaux ou par des individus. Près de nous, nous signalerons les travaux du D^r RICHERT (observations sur lesquelles nous reviendrons plus loin, au sujet du *Millepertuis*). En pathologie humaine, nous rappellerons les accidents mentionnés par PRIME chez les épileptiques soignés par l'éosine. Les érythèmes solaires observés par JAUSION, MARCERON et STEPHANS chez des malades injectés de gonacrine ou de tryptaflavine. Enfin, un cas de « Coup de lumière acridinique » était aussi observé par RATHERY et JULIEN MARIE.

Phénomènes de Photosensibilisation - Leurs causes

Nous avons vu dans le chapitre précédent ce que sont les phénomènes de photosensibilisation ; leurs causes ont été étudiées déjà d'assez nombreuses fois ; nous rappellerons sommairement quelle est leur origine. Disons, tout d'abord, que ces phénomènes s'observent assez fréquemment chez l'homme, mais ne se produisent que par injection de substances médicamenteuses fluorescentes (gonacrine, trypanflavine), et que ces substances n'auraient aucun effet nocif sans l'action ultérieure de la lumière sur la peau. Le type de ces phénomènes est la pellagre humaine.

Chez les animaux, ces phénomènes semblent plus fréquents : ils sont dus à l'absorption par voie digestive de végétaux contenant des substances fluorescentes susceptibles de se répandre et d'affecter les territoires sous-cutanés. De très nombreux cas d'intoxication par les plantes ont été signalés en médecine vétérinaire (nous rappellerons les travaux de RICHERT). Tous les phénomènes observés nous montrent la corrélation existant entre la pigmentation et la photosensibilité.

Avant d'énumérer les causes de ces phénomènes, nous essayerons de donner les quelques caractéris-

tiques des cas observés. Notons, tout d'abord, que ces phénomènes toxiques sont dus à l'absorption de végétaux à *substances fluorescentes diffusibles*, mais que le composé fluorescent n'est pas suffisant à déterminer par lui-même les accidents, — et que, pour que ceux-ci se produisent, il faut que la peau soit exposée *totalement* ou *partiellement* à la lumière (une peau très pigmentée constitue pour l'animal un écran protecteur) — que ces maladies apparaissent aux saisons de grande luminosité, et qu'elles se manifestent par des accidents cutanés, digestifs et nerveux.

Avant d'étudier particulièrement les accidents provoqués par ingestion des Hypéricées (*Hypericum perforatum*, *Hypericum crispum*, etc...), nous citons, pour mémoire :

Les accidents causés par l'absorption de Sarrazin ou *Fagopyrisme* [affection qui peut se produire longtemps après ingestion du sarrazin — fréquente chez le mouton blanc, en général, mais rencontrée parfois chez les moutons noirs, ce qui semblerait être paradoxal, mais qui peut s'expliquer partiellement par un épandage du corps fluorescent tout à fait en surface]. Tous les troubles observés le sont lorsque les animaux sont exposés à la lumière solaire ; si les moutons sont maintenus à l'obscurité, ils ne ressentent rien. D'où :

Photosensibilisation = *substance toxique* + *lumière*

Les symptômes de ce mal sont toujours d'ordre cutané, digestif et nerveux. Ces phénomènes ont été

également observés chez le bœuf, le porc, et parfois chez le cheval à robe claire ou à pelage clair.

On note également des accidents causés par absorption de trèfles : *Trifoliose* chez le bœuf, le mouton et les chevaux. [Intoxication fréquente en Allemagne — mais, dans les cas de trifoliose, outre les accidents cutanés remarquables dans le fagopyrisme, nous avons des manifestations dénonçant de graves lésions internes].

Dans les accidents provoqués par les Vesces chez le cheval, nous observons des aspects variés qui se traduisent par une tuméfaction suivie de gangrène des régions blanches de la peau.

Accidents causés par le Millepertuis

Ces accidents ont surtout été observés, en France, chez le cheval (études de RICHERT, qui a recueilli de nombreux cas d'intoxication par cette plante), et en Afrique du Nord (Tunisie), chez le mouton.

En voyant la grande abondance du « Millepertuis » dans les près de certaines régions d'élevage, on peut se demander comment les accidents ne sont pas plus nombreux. A notre avis, on peut s'expliquer le fait assez facilement : Sans parler des erreurs de diagnostic toujours possibles pour des Intoxications légères, remarquons que les animaux ont peu d'attrance pour les Millepertuis à l'état frais. — Si la plante est fauchée et mise en réserve pour l'hiver avec les autres plantes non toxiques - remarquons aussi qu'elle est consommée dans les saisons froides, quand les animaux vivent surtout en étable, en lumière atténuée.

On pourrait les réunir sous le néologisme d'*Hypéricose*.

Les expériences que nous avons réalisées l'ont été par absorption de plantes indigènes trouvées à une altitude variant entre 1.100 et 1.300 mètres, sur les flancs des montagnes de Blida (Les Glacières-Chréa). Nous avons trouvé ces plantes dans des endroits incultes et assez secs, d'autres à l'orée des bois et avons essayé de les transporter au laboratoire pour en faire une expérimentation plus attentive.

Conditions nécessaires de la photosensibilisation

- A) Localisation anatomique et histologique du pigment sensibilisant.
- B) Détermination des rayons actifs.

Une certaine quantité de substance fluorescente (un *minimum necessarium*) et une large distribution en surface paraissent indispensables à la production du phénomène. En effet, le pigment introduit dans l'économie se répartit par le jeu des activités circulatoires, puis semble se concentrer dans certains tissus en raison même des conditions physico-chimiques de solubilisation ou d'absorption que ceux-ci présentent.

Les accidents généraux, les accidents mortels, semblent être la sommation d'une série d'excitations prenant leur origine dans les téguments exposés aux radiations actives, et non dans les tissus profonds où le pigment peut être temporairement fixé ou mis en réserve.

Deux conditions paraissent donc nécessaires et elles sont démontrées : a) un minimum de pigment ; b) une répartition superficielle occupant une certaine étendue. Comme dans le cas des brûlures, par exemple, la valeur de la surface imprégnée et irradiée semble jouer un rôle de premier plan.

Si l'on considère le cas d'une fixation sous-cutanée

de pigment sensibilisant, introduite en un point donné par piqûre expérimentale, on conçoit que la lésion soit limitée en ce même point et que les phénomènes soient inexistants, très réduits ou retardés.

Il semblerait bien résulter de tout ceci que chez l'animal à pelage clair, saturé de pigment du type « Hypéricine », il soit possible de déceler spectroscopiquement « in situ » (dans les téguments de l'oreille du lapin ou du cobaye par exemple) la présence du sensibilisateur. Nous avons tenté cette expérience sans succès. On sait en effet combien les spectres de l'Oxyhémoglobine et celui de l'Hypéricine sont voisins et il semble bien difficile d'utiliser le test spectroscopique avec sécurité. C'est cependant une méthode de contrôle qui devrait pouvoir être appliquée dans tous les cas de photosensibilisation où la découverte des bandes d'absorption caractéristiques d'un pigment suspecté suffirait à l'identifier. Ce serait là une indication non seulement d'ordre diagnostique mais encore la seule méthode permettant d'instituer une thérapeutique par fluorescence complémentaire comme nous le verrons ultérieurement.

Pour que la radiation active puisse déclancher les phénomènes de Photodynamie, il faut qu'elle atteigne, avec le minimum d'absorption, le pigment déposé au contact des cellules et des tissus ; c'est la conclusion qui se dégage de l'étude de P. COLLET : « L'apparition des accidents exige l'imprégnation du corps muqueux de Malpighi par le photo-sensibilisateur et l'action simultanée de la lumière. Les rayons

actifs sont ceux que le sensibilisateur absorbe électivement ».

Nos expériences nous ont conduit aux mêmes conclusions.

INGESTION DE LA PLANTE

Les animaux de laboratoire (souris blanches, cobayes, lapins) n'ont (ce sont les résultats de nos multiples observations) aucune tendance à manger spontanément les Millepertuis. Mis en présence de la plante, ils la dédaignent et restent de longues heures sans y toucher. La grande faim seule les contraint à l'absorber et encore en petite quantité. Dans l'expérimentation courante, nous avons été réduits à laisser nos animaux quelques heures à jeûn et à leur présenter alors le Millepertuis « enrobé » de feuilles de choux ou de salade.

Il s'agissait, à vrai dire, de plantes fraîches, donnant peut-être à leur odorat une impression inaccoutumée, et imposant ainsi à leur instinct une attitude de méfiance.

Nous avons noté que les sommités fleuries desséchées étaient plus facilement absorbées que les fraîches. Le Millepertuis se présentant dans les fourrages mélangé à d'autres herbes agréables à l'animal et dans les prairies à des plantes d'odeur et de goût coutumiers, on s'explique que, malgré une répugnance

vraisemblablement naturelle, les animaux se laissent surprendre.

Nous donnons ces quelques détails, en apparence inutiles, pour éviter à d'autres chercheurs les difficultés que nous avons rencontrées dans notre expérimentation. Désireux en effet de suivre l'évolution de l'intoxication photodynamique produite par l'Hypéricine, nous voulions mettre l'animal dans le cas identique à celui de l'absorption alimentaire accidentelle. Il s'agissait de créer « l'état d'imprégnation pigmentaire » en imitant les modalités naturelles de son apparition et d'en suivre pas à pas — dans l'irradiation provoquée ou dans la lumière très atténuée — l'évolution régulière.

Nous rapportons ci-après les résultats de nos divers essais effectués en général sur des animaux à pelage clair, dont nous avons noté les réactions pathologiques, en comparant leur attitude dans la lumière à celle d'animaux témoins. On doit craindre en effet que la seule insolation soit capable de produire des phénomènes de « phototoxie. »

Recherches expérimentales

SUR LA SOURIS BLANCHE (*MUS MUSCULUS*)

INJECTION SOUS CUTANÉE DE FIN^e BROyat DE PÉTALES

d'*Hypericum perforatum*

La souris blanche (*Mus musculus*), petit animal habituellement utilisé dans nos recherches bactériologiques, se prête très mal aux essais des actions photodynamiques de l'*Hypéricine*. Même après un jeûne de quelques heures, la souris blanche refuse d'absorber, feuilles, fleurs, fraîches ou desséchées. Même enrobé dans une boulette de pain, le végétal est mis de côté par l'animal qui refuse cette nourriture. Pour obtenir un résultat, il faut soit séparer le rouge d'*Hypericum* par un procédé chimique, puis procéder par injection, ce qui était contraire à notre plan expérimental — soit recourir à un artifice assez grossier. Nous nous sommes résolu, après de très nombreux essais infructueux (passage du « rouge » dans des corps gras — mélange grossier du pigment à du lait où il se solubilise très mal —), à utiliser le procédé suivant : un fin broyat de pétales d'*Hypericum perforatum* a été réalisé dans du sérum physiologique et le tout injecté sous la peau grâce à une aiguille à lumière large. Cette façon d'opérer, bien que s'écartant de notre sujet, permet cependant de noter quelques faits pathologiques qui peuvent être, sans grande certitude toutefois, rapportés à la photosensibilisation.

ETUDE ANALYTIQUE DES PHÉNOMÈNES APPARAISSANT
CHEZ LE COBAYE APRÈS INGESTION DE
FEUILLES ET TIGES D'HYPERICUM

Les cobayes absorbent plus facilement que les souris blanches, les feuilles et tiges fraîches, si l'on prend la précaution indispensable de les leur présenter finement hâchées et mélangées avec les végétaux composant leur nourriture habituelle ; faute de cette précaution, les cobayes refuseront d'absorber l' « *Hypericum* ».

Après l'absorption de feuilles et tiges, les animaux à pelage clair maintenus à la lumière diffuse ne présentent aucun symptôme apparent d'intoxication et rien dans leur « *habitus* » ne traduit un phénomène toxique. L'exposition à la lumière solaire déclenche les symptômes habituellement notés et caractéristiques de l'action photodynamique : démangeaisons, grattages, mouvements anormaux, émission d'urine, puis après une heure et demie environ prostration et mort.

L'autopsie montre des infarctus pulmonaires, quelques caillots dans les cavités cardiaques ; l'estomac contient encore des aliments dans lesquels la recherche du rouge d'*Hypericum* se fait avec la plus grande facilité : l'intestin contient des vestiges alimentaires, on y trouve aussi du « Rouge » non absorbé. La muqueuse de l'intestin présente parfois par places une légère teinte rosée. Il est probable qu'il s'agit encore ici de rouge non absorbé. L'étude des urines émises

pendant la durée de l'expérience ne nous a pas montré une variation notable de couleur. En lumière naturelle, en lumière de WOOD, ces urines ne présentent aucune coloration que l'on puisse rapporter directement au Rouge d'Hypéricum.

La recherche d'un leucodérivé éventuel ne donne aucun résultat. Il faut donc incriminer la technique ou penser que le pigment n'a pas pris la voie d'élimination rénale — abandonnées à elles-mêmes, ces urines, même après fermentation ammoniacale, ne montrent pas non plus trace de pigment.

On peut alors supposer soit que le pigment a pris la voie biliaire, soit plus simplement que sa molécule a été disloquée et que les conditions de fluorescence ont disparu au cours du clivage.

Cette hypothèse, que nous serons amenés à reprendre lors de l'étude des urines de lapin qui conduisent au même résultat négatif, s'accorde d'une manière assez satisfaisante avec les caractères physico-chimiques du pigment. Celui-ci est insoluble dans l'eau, très peu soluble dans les sels ordinairement employés à cet effet, dans les acides, les bases habituelles. Mais au contraire, soluble dans l'alcool, l'éther, l'éther de pétrole, plus soluble encore dans la Pyridine (caractère sur lequel nous insistons longuement et que nous croyons être les premiers à signaler) — soluble dans les huiles (on se souvient de l'Huile de Millepertuis de l'ancienne Pharmacopée), il paraît donc logique d'admettre que les éléments végétaux disloqués sous l'action des sucres di-

gestifs libèrent le pigment qui s'engage dans une combinaison soluble où se solubilise dans un des produits libérés avec lui et passe ainsi la barrière intestinale. Réparti dans l'organisme, c'est à la fraction fixée sous la peau que l'on doit rapporter l'effet photodynamique.

ÉTUDE DES URINES DE LAPINS ÉMISES APRÈS ABSORPTION DE SOMMITÉS FLEURIES D'*HYPERICUM*

Les lapins blancs utilisés dans ces expériences, placés dans une cage permettant de recueillir les urines avec un minimum de souillures, avaient reçu, grâce à la technique indiquée plus haut, une abondante ration d'*Hypericum* frais, composée surtout de sommités fleuries très riches en formations pigmentaires. Pendant une semaine, les animaux ont reçu alternativement une ration normale et une ration riche en fleurs et feuilles d'« *Hypericum perforatum*. » La quantité ingérée était d'ailleurs assez variable, car l'animal accepte mal ce genre de nourriture.

Nous avons toujours retrouvé le rouge dans les matières fécales et à titre de résidu alimentaire non modifié, mais, comme dans les cas cités plus haut (expériences sur les cobayes), il ne nous a pas été

possible de détecter, malgré de nombreux essais, la matière colorante primitive dans les urines. La présence de matière colorante dans les téguments nous paraît cependant démontrée par la nature des accidents bénins mais appréciables de Photosensibilisation qui apparaissaient dès que nous placions quelques instants l'animal au soleil.

Il résulte de ces expériences que *l'ingestion* de Millepertuis amène, chez l'animal placé en pleine lumière, des accidents de gravité variable qui rappellent ceux que les divers auteurs ont obtenus par *l'injection* de composés fluorescents comme l'Eosine et l'Hématoporphyrine. Nous allons rapprocher ces faits dans le paragraphe suivant.

COMPARAISON DES EFFETS DU ROUGE D'HYPERICUM
AVEC LES ACTIONS PHOTODYNAMIQUES DUES A
L'EOSINE ET A L'HÉMATOPORPHYRINE

Nous résumerons les données tirées de la bibliographie et les enseignements découlant de notre propre expérience en disant que ces trois types de composés, dont les deux premiers seuls sont parfaitement connus, présentent cependant entre eux, sur le terrain de la Photosensibilisation et de la Photodynamie, des analogies frappantes.

Les phénomènes déclanchés chez l'animal en ex-

périmentation varient peut-être d'intensité, mais sont de toute évidence susceptibles d'être rapportés à une même cause. Il y a très vraisemblablement sous l'action catalysante des composés fluorescents inclus dans les cellules superficielles, apparition, dès l'action lumineuse, d'un déséquilibre affectant le comportement physiologique colloïdal. A partir du foyer actif, sont éliminées puis véhiculées par voie humorale, des substances résultant du clivage des grosses molécules organiques vraisemblablement du type protéique. Il y aurait lieu, à ce sujet, de reprendre cette étude sur de gros animaux sensibilisés et de procéder avant, pendant et après l'irradiation, à l'étude des propriétés physico-chimiques du sang et notamment au dosage des *Polypeptides* (indice d'une destruction protéique anormale) et à la mesure de la *Tension superficielle* et de la viscosité sanguine. Nous espérons réaliser prochainement les expériences indiquées ci-dessus.

Les premiers effets nocifs produits par le Rouge d'Hypéricum s'apparentent d'assez près aux symptômes signalés par TAPPEINER et produits par l'Eosine et l'Hématoporphyrine.

L'auteur précité expérimentant sur des souris blanches note successivement et dans l'ordre : Phénomène de grattage — suivi de Photophobie — d'enflure, de gonflement œdémateux.

« Les animaux demeurent assoupis et somnolents
« et finissent par périr durant l'illumination ; on note
« parfois des phénomènes frappants d'excitabilité

« réflexe : Clonus du pied, suivi de contracture tétanique. »

La rougeur et l'œdème auriculaire que nous avons noté chez nos lapins, représentent donc la première manifestation pathologique, c'est le *signal-symptôme* du début de l'intoxication ; une fois ce signe obtenu, il nous paraît que la preuve de la *Photosensibilisation* est faite.

Le « Rouge d'Hypéricum », auquel sont dus les nombreux accidents de Photosensibilisation signalés en médecine vétérinaire, notamment chez les chevaux à robe blanche et chez les moutons de Tunisie, permet de réaliser et d'étudier chez les animaux de laboratoire les premiers symptômes de l'intoxication par Photodynamie.

Nous entrevoyons dès maintenant la possibilité d'une thérapeutique destinée à lutter immédiatement contre ces accidents. Il semble bien que *l'injection chez l'animal malade d'une substance non toxique, possédant une fluorescence complémentaire* serait capable, en formant écran, d'arrêter l'action toxique de la lumière. Dans l'état actuel de nos connaissances, la thérapeutique immédiate à appliquer consiste évidemment à soustraire l'animal malade (le diagnostic bien fait) à l'action des radiations nocives, et à appliquer ensuite, faute de mieux, une médication symptomatique. Les recherches récentes de MASSA, BATTESTINI, EMMINGER et DE LIGNAC ayant démontré le pouvoir inhibiteur exercé par le chlorure de calcium sur la Photosensibilisation par les Porphy-

rines, rien ne paraît s'opposer à l'essai d'une pareille thérapeutique dans les intoxications photodynamiques par l'Hypéricum.

Conclusions

La famille des Hypéricacées, dont nous avons fait une étude générale dans notre première partie, comprend un grand nombre d'espèces en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc), nous mentionnons tout particulièrement « *Hypericum perforatum* » et « *Hypericum crispum* » (Hamra des Arabes).

Les spécimens utilisés dans nos expériences, conservés et étudiés au laboratoire, ont été recueillis dans le Massif de Chréa (station des Glacières), dans un terrain schisteux, à l'altitude de 1.050 mètres environ.

La meilleure saison pour la récolte de la plante poussant en zone montagneuse est la deuxième partie du printemps (avril-mai). Les *Hypericum* sont alors en pleine floraison, et l'étude et l'utilisation des Chromatophores, gorgés de rouge, est particulièrement facilitée.

Nous avons indiqué un petit procédé permettant de conserver au laboratoire, après transplantation, les plantes recueillies en pleine vitalité. Il suffit d'étayer les tiges longues et flexibles et de réaliser sur le tuteur, et par paliers successifs, une irrigation locale grâce à un manchon d'ouate ou de gaze.

Dans une première série d'expériences, nous avons montré l'apparition du rouge d'*Hypericum* dès les feuilles cotylédonaire.

Les formations colorées apparaissent en nombre pair, deux seulement dans les premières feuilles, plus facilement visibles à la face inférieure de la feuille. La coexistence et l'apparition simultanée de la Chlorophyll et du Rouge dès ces premières manifestations de la vie du végétal suggèrent l'idée d'une liaison biologique caractéristique du métabolisme propre de l'*Hypericum*.

Pour obtenir une importante quantité de pigment, il est préférable d'utiliser les sommités fleuries. Nous avons systématiquement limité notre étude spectroscopique du « Rouge d'*Hypericum* » à l'examen « *in situ* » en utilisant le microspectroscope monté sur un microscope muni d'un objectif à sec ou à immersion.

L'examen du spectre a été fait dans les diverses parties de la plante possédant des « Chromatophores ». Cet examen est très facilement praticable dans les pétales et notamment dans les formations colorées insérées sur leurs bords libres.

Entre lame et lamelle — par simple écrasement de la fleur épanouie — calice séparé — on obtient un jus coloré abondant qui permet des mesures spectroscopiques très faciles.

Nous avons également étudié divers montages — les pétales étant immergés, entre lame et lamelle, dans un solvant.

Nous avons essayé un grand nombre de solvants. C'est à la « Pyridine » que nous paraît revenir la première place. La matière colorante rouge s'y dissout avec une plus grande facilité, et l'examen se pratique très aisément.

On peut conserver les préparations pendant une longue durée en faisant un montage des pétales dans une préparation formée de Baume du Canada dissous dans la Pyridine.

Les positions axiales des bandes spectrales se rapprochent de celles décrites par les auteurs qui ont étudié le spectre sur le pigment après extraction.

Le spectre net du Rouge d'*Hypericum* montre deux bandes dont les axes se rapprochent (à quelques $m\mu$ près) des axes de l'oxyhémoglobine. Nous avons confirmé la ressemblance des deux spectres en proposant d'appeler celui du Rouge d'*Hypericum* « Spectre inversé ».

Les animaux de laboratoire — souris, cobayes, lapins — refusent l'*Hypericum* s'il ne leur est pas donné avec leur nourriture quotidienne. On ne réussit à le faire absorber qu'après une courte période de jeûne ou en le mélangeant très intimement aux autres végétaux acceptés habituellement par l'animal.

Cette observation s'ajoute à celles déjà nombreuses qui semblent admettre que l'animal a l'instinct de sélection pour sa nourriture. On explique les ingestions accidentelles d'*Hypericum* par le mélange dans les prairies avec d'autres plantes fourragères.

La plante ingérée, le « Rouge » est vraisemblablement absorbé dans l'intestin au niveau des Chylifères, puis parvient aux surfaces cutanées où, fixé temporairement, il donne lieu à des phénomènes de Photodynamie si l'animal est insolé.

A l'autopsie, nous avons trouvé le Rouge dans l'estomac, l'intestin, les matières fécales, où il représente la partie non absorbée.

Le « Rouge » ne s'élimine pas en nature par les urines — nous avons recherché, sans succès, le leucodérivé qui pourrait représenter sa forme d'excrétion.

Les phénomènes photodynamiques, après ingestion de la plante, reproduisent à quelques variantes près, ceux que décrit la littérature vétérinaire et qu'ont décrit, de leur côté, tous les expérimentateurs étudiant l'action des substances fluorescentes (éosine, hématorporphyrine) sur l'animal à température constante.

L'étude du « Rouge » d'*Hypericum* pose un certain nombre de problèmes que nous avons signalé sans arriver à une solution satisfaisante. Par ses pro-

priétés fluorescentes, l'intensité des phénomènes photodynamiques qu'il déclanche — ce pigment à composition encore mal définie mérite d'occuper une place importante dans la gamme des substances actives sous l'influence de certaines radiations, et notamment de celles qui composent le spectre solaire.

Bibliographie

AZAM. — De la Photosensibilisation (Thèse, Paris, 1927).

BATTANDIER et TRABUT. — Flore de l'Algérie.

BAYLE (ED.) et FABRE (R.). — Application des phénomènes de fluorescence à l'identification de divers médicaments. *Journ. de pharm. et de chim.*, 1924, T. 29, N° 12, P. 535-543.

— Recherches sur la fluorescence de quelques composés organiques. C. R. Acad. des Sc., séance du 11 février 1924.

— Etude de la fluorescence considérée comme un critérium de pureté des composés organiques. *Journ. de pharm. et de chim.*, 1925, Jg. 117, Nr 6, S. 248 bis-253.

BAYLE (ED.), FABRE (R.) et GEORGE (H.). — Contribution à l'étude de la fluorescence et de ses applications. *Ann. de méd. lég.*, 1925, T. 5, N° 1, P. 11-39.

BAYLISS (W.-M.). — *Principes of general Physiology*. Longmans and Co, édit.

BIZARD et MARCERON. — La lumière en thérapeutique, 1 vol. *Baillière*, Paris 1926.

BEILLE (Dr). — Précis de botanique pharmaceutique.

BOHN et DRZEWINA. — Action toxique du rouge neutre en présence de la lumière C. R. Soc. Biologie, 7 juillet 1923.

BOIS (E.). — *Recherches spectrochimiques sur quelques porphyrines animales et sur les combinaisons de l'hématoporphyrine avec le fer*. Fribourg (Suisse). Imprimerie Franières frères, 1927.

BOM (TH. VAN DER). — *Recherches sur la fluorescence de l'hématoporphyrine*. — Dissertation : Freiburg. Schweiz, 1924.

BULL. — Notes on some biotic effects of light and photodynamic action. *The Journal of Australian Veterinary Association*, sept. 1926, p. 83.

BULL et MACINDOE. — Photosensitization in sheep : Trefoil Dermatitis. (Hid ; sep. 1926, p. 25).

CZERNY (D^r). — Ueber das Hypericin (Hypericum rot). (Zeitschrift für physiol. Chem. LXXIII, 1911, s. 370, — Analyse in *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1911, p. 500.

CHAMETON, CHAMBRETET et POIRET. — 1818, *Flore médicale*.

COLLET (P.). — Contribution à l'étude de la Photosensibilisation chez les animaux. (Th. Doctorat Vétérinaire, Lyon, 1929).

DERRIEN (E.). — Fluorescence des tissus en lumière de Wood. *Bull. de la Soc. Chimique de France*, 4^e série, t. XXXV.

DERRIEN (E.) et TURCHINI (J.). — Sur l'accumulation d'une porphyrine dans la glande de Harder des

- rongeurs du genre *Mus* et sur son mode d'excrétion. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, 1924, t. 91, Nr 27, p. 637-639.
- Nouvelles observations de fluorescence rouge chez les animaux. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, 1925, t. 92, Nr 13, p. 1030 bis, 1.031.
 - Sur les fluorescences rouges de certains tissus ou secreta animaux en lumière ultra-paraviolette (autour de 3.650 A°). *C. R. Soc. de Biol.*, 4 mars 1925.
 - Nouvelles utilisations des phénomènes de fluorescence en anatomie et en histologie (avec démonstrations). *C. R. Association des Anatomistes*, 20^e réunion. Turin, 6-8 avril 1925.
- DOGNON. — Etude de la photosensibilisation biologique ; la fluorescence et la pénétration des photosensibilisateurs. *C. R. Soc. Biol.*, 10 déc. 1927.
- DOUGLAS (M. Gay) et MONROE (A. Mc Iver). — Photodynamic action of extracts of various grains with special reference to pellagra. *Am. Journ. Trop. Med.*, 2, 115, 22, 1922.
- DUBOIS (R.). — La Vie et la lumière, Alcan, Paris, 1914, p. 170.
- DUFRENOY (J). — La photosensibilisation chez les Végétaux. [Rapport présenté à la Société de Pathologie comparée, le 7 décembre 1926].
- FABRE et SIMONNET. — Sur l'action sensibilisante des solutions d'hématoporphyrine. *C. R. Soc. Biol.*, 13 nov. 1925, p. 1152.
- Contribution à l'étude de l'intoxication par le Sulfonal. *Bull. Soc. Chi. Biol.*, déc. 1925, p. 1129.

GALAVIELLE et PORTES. — L'hénomènes de germination et de croissance des végétaux ; modifications apportées par les substances fluorescentes. *Bulletin Soc. Sc. Méd. et Biol.*, Montpellier, fév. 1923.

GASSUL. — Die Wirkung U. V. L. auf die inneren Organe mit Eosin sensibilisierter Mause. *Strahlentherapie*, 30 avril 1920.

GENNES (L. DE). — Le traitement du rachitisme par la lumière. Thèse de Paris, 1924, A. Legrand, édit.

GEORGE (H.) et BAYLE (ED.). — Définition spectrophotométrique des couleurs de fluorescence. *C. R. Ac. des Sc.*, séance du 2 juin 1924.

GUILLAUME (A.-C.). — Effets de quelques radiations et de certains courants électriques sur la circulation tégumentaire. *Bull. Méd.*, n° 41, octobre 1925.

— Le pigment épidermique, la pénétration des rayons U.V. et le mécanisme de protection de l'organisme vis-à-vis de ces radiations. *Bull. et Mém. de la Soc. méd. des Hôp. de Paris*, n° 23, 1926.

— Sensibilité et sensibilisation des téguments aux diverses radiations lumineuses. Mode physique et biologique d'action des rayons lumineux sur les téguments *B. et M. Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, n° 16, 13 mai 1926, p. 730.

— Sensibilité et sensibilisation à la lumière. I. Les maladies par sensibilisation des téguments à la lumière. II. Mécanisme physique et biologique de la photosensibilisation. III. Les théories de la lumière dans leurs rapports avec les tissus humains. I. *Bull. Méd.*, n° 20, mai 1926 ; II. *Bull. Méd.*, n° 21, mai 1926 ; III. *Bull. Méd.*, n° 22, mai 1926.

- Sensibilité et sensibilisation aux rayons lumineux. Les maladies par sensibilisation des téguments à la lumière. *Bull. Méd.* n^{os} 20, 21, 22 des 5, 9, 12 Mai 1926.
 - Rôle de la chaleur dans l'atténuation des effets chimiques produits par les rayons U. V., et mécanisme de cette atténuation. *B. et M. Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, n^o 27, 29 juin 1926, p. 1358.
 - Mémoire sur les phénomènes de photosensibilisation. *Rev. d'Actinologie*, n^o de février 1927.
 - Les radiations lumineuses en physiologie et thérapeutique. De l'infra-rouge à l'ultra-violet, I, vol. de 516 pages. *Masson, Paris*, 1927.
- HARVEY, NEWTON. — Studies of bioluminescence. XVIII. Fluorescence and inhibition of luminescence XVII. Fluorescence and inhibition of luminescence in ctenophores by ultra-violet light. *Journ. of gen.*
- HENRI (VICTOR). — Etudes de Photochimie. *Gauthiers Villars, Paris*, 1919.
- HENRY (PROF.). — Accidents consécutifs à l'ingestion de Millepertuis, observés chez les chevaux. *Bull. Soc. Cent. Méd. Vét.*, 4 déc. 1913.
- HERTEL (E.). — Ueber physiologische Wirkung von Strahlen verschiedener Wellenlänge. *Zeits für Allgemeinier Physio.*, 1905.
- HILSONT (P.). — Les Phénomènes de photosensibilisation chez les animaux domestiques. [Thèse, Paris, 1928].
- ISCOVESCO. — Quelques données nouvelles de photobiologie. *L'Œuvre médico-thérapeutique*, n^o 8, mai 1924, p. 1.

JACOBSON (R.). — Ueber die Wirkung fluorescierender Stoffe auf Flimmerepithel. *Munchener Medizin Wochenschrift*, 1911 .

JAUSION (PROF.). — Des dermatoses par sensibilisation à la lumière. *Paris Médical*, 12 fév. 1927, p. 153.

JAUSION et MARCERON. — Le coup de soleil acridinique, son traitement par la résorcine. *Bull. Soc. Fr. Derm. et Syphil.*, 9 juillet 1925.

JAUSION, RICHERT, DUFREYNAY et GUILLAUME. — Les phénomènes de Photosensibilisation. — *Revue de Pathologie comparée et d'Hygiène générale*, Paris, 1927.

JOLLY (J.). — Modifications histologiques des organes lymphoïdes produites par les radiations lumineuses. *C. R. Soc. Biol.*, 1925.

KAGAWA T. et NIMURA, puis KAGAWA. — Hématoporphyrinurie du lapin intoxiqué par le sulfonal. *Soc. de Dermatologie et d'Urologie de Tokio. In Japanisché Journal of Dermatologie*, 1922.

LAMBLING E. — Précis de Biochimie, 3^e édit. Paris 1921, p. 464 d.

LEBBOIS (Mlle A.). — Recherches sur l'origine et le développement des canaux sécréteurs et des poches sécrétrices (Thèse soutenue devant la Faculté des Sciences de Paris, pour obtenir le grade de Docteur ès-sciences naturelles).

LECLERC (HENRI). — Précis de Phytothérapie.

LEDOUX-LEGARD. — Action de la lumière sur la toxicité de l'éosine. *Ann. Inst. Pasteur*, n° 16, 1902, p. 587.

LEREDDE et PAUTRIER. — Photothérapie et Photobiologie, Paris 1903.

MARCERON (L.). — Contribution à l'étude de la photosensibilisation par les substances fluorescentes. [Thèse Paris, 1925].

MARCHLEWSKI (L.). — Chlorophylle et pigment du sang. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, n° 8, sept.-oct. 1922, p. 476.

NIETHAMMER. — Photokatalysation. *Bioch. Zeitsch.*, s. 278, 1925.

PARISOT J. — Transformation du pigment sanguin en pigment biliaire sous l'influence de l'adrénaline. *C. R.* 153, 1518, 1911.

PAUGOUE. — Du Millepertuis et de ses effets sur l'économie animale. *Recueil de Méd. Vét.*, 1861, p. 121.

PECH (J. L.). — Les radiations en biologie. A propos de la photothérapie. *Presse médicale*, n° 83, 17 oct. 1925.

POLONOVSKI M. — La synthèse dans le monde végétal (conférence faite devant la Société de Chimie biologique, 17 février 1925. *Bull. S. de Ch. Biol.*, t. VII, n° 5, mai 1925, p. 526.

PORTES F. et BENOIT C. — La fluorescence, utilisation de cette propriété en chimie biologique médicale. *Bull. Soc. Sc. méd.*, Montpellier, 1925.

RAY (G.). — Notes sur les effets du Millepertuis à feuilles crispées. *Bull. Soc. Cent. Méd. Vét.*, 1914, p. 39.

REBELLO (S.). — Action biologique des substances fluorescentes. L'action photodynamique de l'éosine sur les plantes. *C. R. Soc. Biol.*, 1920, p. 884.

STARKS. — A very singular affection of the skin in a cow. *The Veterinarian*, 1834, p. 97.

TAPPEINER (H. Von) et JESIONEK. — Essais thérapeutiques avec des substances fluorescentes. *Munch. Mediz. Wochens.*, nov. 1903.

TAPPEINER (H. Von) et JOLDBAUER. — Die sensibilisierende Wirkung fluorescierender Substanzen. Gesammelte untersuchungen ueber die photodynamische Erscheinungen. *Vogel*, Leipzig, 1907.

TRABUT. — Botanique spéciale, Paris, 1898, p. 239.

TURCHINI J. et MILLOT J. — Sur la fluorescence en lumière ultra-para-violette (lumière de Wood) des glandes séricigènes et de certains éléments figurés du sang des araignées. *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, 1926, t. 94, Nr 3, p. 171-173.

VERNE (J.). — Les pigments dans l'organisme animal. *Doin*, Paris, 1926.

VAN TIEGHEM. — Second mémoire sur les canaux sécréteurs des plantes. *Annales des sciences naturelles* (Septième série), 1885.

WARTENSTEIN H. — Recherches expérimentales sur l'Hydroa vacciniforme. *Archiv. für Derm. und Syph.* 1922, t. CXL, p. 500.

YUNG (GORDON). — La coagulation de la protéine par
la lumière solaire. *Proceedings Roy. Soc.*, t. 651,
p. 235.

Table des Matières

	pages
INTRODUCTION	13
HISTORIQUE	17

PREMIERE PARTIE

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES HYPÉRICACÉES	25
Anatomie microscopique - Appareil sécréteur	35
Anatomie de l' <i>Hypericum perforatum</i>	45
Appareil sécréteur de l' <i>Hypericum perforatum</i>	47

DEUXIEME PARTIE

DOCUMENTS GÉNÉRAUX ET RECHERCHES PERSONNELLES SUR LA PHYSICO-CHIMIE DU ROUGE D'HYPÉRICUM	53
a) Conservation des plantes	55
b) Extraction du Rouge d' <i>Hypericum</i>	58
c) Examen spectroscopique	66
d) Comparaison entre le spectre de l'Hypéricine et celui de l'Oxyhémoglobine	71

TROISIEME PARTIE

a) PHÉNOMÈNES DE PHOTOSENSIBILISATION.	
Sur la photosensibilisation	79
Phénomènes de Photosensibilisation - Leurs causes	84
Conditions nécessaires de la photosensibilisation	88

	pages
b) RECHERCHES EXPÉRIMENTALES.	
1) Sur la Souris blanche	70
2) Sur le Cobaye	71
3) Etude des urines de Lapins émises après absorption de sommités fleuries d'Hypéri- cum	95
Comparaison des effets du Rouge d'Hypéri- cum avec les actions photodynamiques dues à l'Eosine et à l'Hématoporphyrine..	96
CONCLUSIONS	101
BIBLIOGRAPHIE	107

Vu : *Le Président de thèse,*

F. PORTES.

Vu : *le Doyen,*

E. LEBLANC.

Vu et permis d'imprimer

Alger, le 24 Juin 1938

Le Recteur,

P. MARTINO.

